

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-276782
(43)Date of publication or application : 20.10.1998

(51)Int.Cl. C12N 15/09
C07H 21/04
C12N 1/19
C12N 1/21
C12N 5/10
C12N 9/10
//(C12N 15/09
C12R 1:91)

(21) Application number : 09-083133

(71)Applicant : NISSHINBO IND INC
HAYASHI TAKAHISA

(22) Date of filing : 01.04.1997

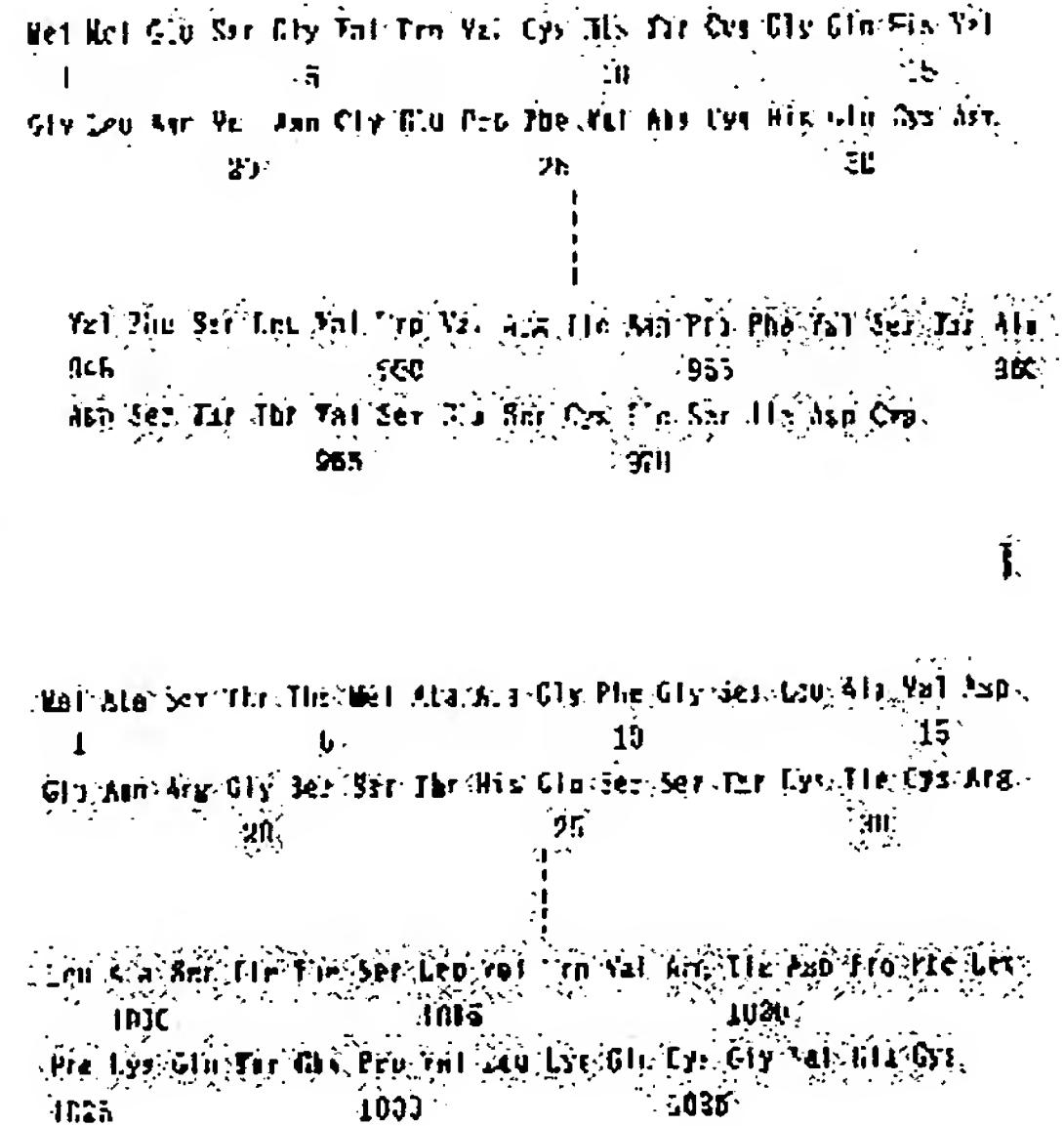
(72)Inventor : HASEGAWA OSAMU
AOZUKA SATOSHI
HAYASHI TAKAHISA
IHARA YURI

(54) GENE FOR CELLULOSE-SYNTHESIZING ENZYME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new gene comprising a DNA encoding a protein containing a specific amino acid sequence and having a cellulose-synthesizing enzyme activity, and useful for being inserted into prokaryotic cells or eukaryotic cells to control the production of cellulose.

SOLUTION: This gene for an enzyme for synthesizing cellulose comprises a new DNA which encodes a protein comprising an amino acid sequence of formula I, formula II, etc., or an amino acid sequence of formula I, formula II, etc., in which one to several amino acids are deleted, replaced, inserted or added, and having the activity of a cellulose-synthesizing enzyme, and which encodes the cellulose-synthesizing enzyme originated from cotton (*Gossypium hirsutum*), and is useful for being inserted into prokaryotic cells or eukaryotic cells to control the production of cellulose. The DNA is obtained by separating a mRNA from the fiber cell of the cotton, making a cDNA library from the mRNA, screening the library with a probe having a sequence determined from a data base, and subsequently recovering the DNA from the positive clone.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 21.08.2001
[Date of sending the examiner's decision of rejection] 15.06.2004
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

THIS PAGE BLANK (USP)

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平 10-276782

(43) 公開日 平成 10 年 (1998) 10 月 20 日

(51) Int.CI.	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C12N 15/09	ZNA	C12N 15/00	ZNA	A
C07H 21/04		C07H 21/04		B
C12N 1/19		C12N 1/19		
1/21		1/21		
5/10		9/10		

審査請求 未請求 請求項の数 4 OL (全 37 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平 9-83133

(22) 出願日 平成 9 年 (1997) 4 月 1 日

(71) 出願人 000004374

日清紡績株式会社

東京都中央区日本橋人形町 2 丁目 31 番 1
1 号

(71) 出願人 597045055

林 隆久

京都府宇治市五ヶ庄官有地京都大学宿舎 5
44 号

(72) 発明者 長谷川 修

東京都足立区西新井栄町 1-18-1 日
清紡績株式会社東京研究センター内

(74) 代理人 弁理士 遠山 勉 (外 2 名)

OJ

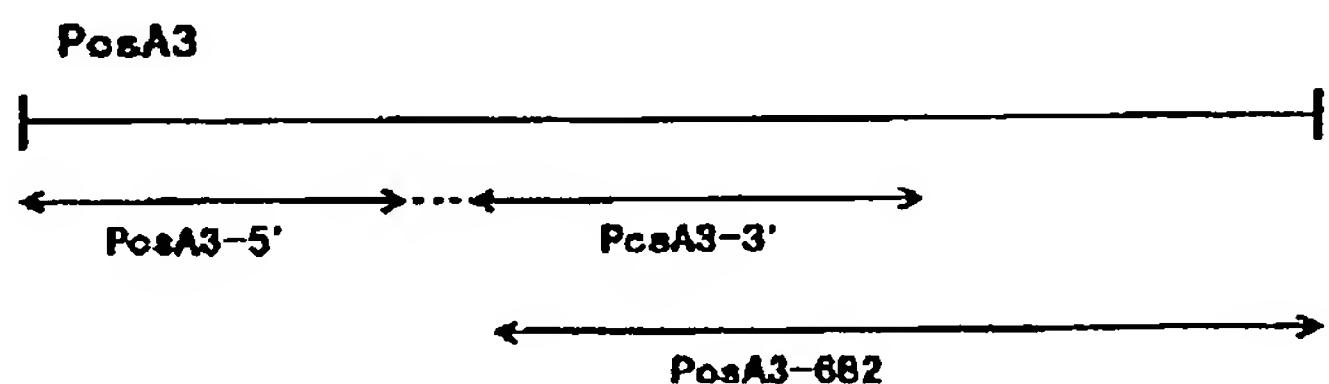
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】セルロース合成酵素遺伝子

(57) 【要約】

【課題】 原核細胞及び真核細胞へ組み込んで、セルロースの生産を制御するために用いられるセルロース合成酵素遺伝子を提供する。

【解決手段】 以下の (A) ~ (C) のいずれかのタンパク質をコードする DNA。 (A) 配列番号 2 に示すアミノ酸配列、又は配列番号 2 において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。 (B) 配列番号 4 に示すアミノ酸配列、又は配列番号 4 において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。 (C) 配列番号 8 に示すアミノ酸配列、又は配列番号 8 において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ配列、及び、配列番号 1 1 に示すアミノ酸配列、又は配列番号 1 1 において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列、を含み、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の(A)～(C)のいずれかのタンパク質をコードするDNA。

(A) 配列番号2に示すアミノ酸配列、又は配列番号2において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。

(B) 配列番号4に示すアミノ酸配列、又は配列番号4において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。

(C) 配列番号8に示すアミノ酸配列、又は配列番号8において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列、及び、

配列番号11に示すアミノ酸配列、又は配列番号11において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列、

を含み、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。

【請求項2】 請求項1記載のDNAの全部又は一部を含む組換えベクター。

【請求項3】 請求項1記載のDNAで形質転換された形質転換細胞。

【請求項4】 請求項1記載のDNAを細胞に導入し、請求項1記載のDNAと相同な塩基配列又は相補的な塩基配列を有するRNAを発現させることにより、前記細胞のセルロース合成を制御する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、ワタ (*Gossypium hirsutum*)由来のセルロース合成酵素をコードするDNA、これを含む組換えDNA、前記DNAで形質転換された形質転換細胞、及び細胞のセルロース合成を制御する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 セルロースは、紙、木質構造物、繊維、衣類、食品、化粧品、医療品としての用途の他、エネルギーとしても利用されており、産業上利用価値がある。セルロースは、またさまざまな結晶構造を取り得るため、その生合成酵素を制御することにより新素材の開発が期待される。これまでのセルロースに関する産業は、既に造られたセルロース産物だけを対象にしてきており、生合成の側面から新素材を開発しようとする試みはなかった。また植物に対する病原菌の病害作用機作が、イモチ菌 (*P. oryzae*) のように、セルロース生合成の阻害に起因するものが多く、セルロース生合成機構の病害抵抗性付加は農業上応用価値がある。さらにセルロースは、地球上で最も豊富な有機化合物であるとともに、大気中のCO₂が最も多量に固定されているシンクでもある。セルロース生合成酵素の遺伝的改良は、セルロー

スをシンクとする大気中のCO₂の調節につながる産業へも応用できる。近年、ワタ繊維細胞由来のcDNAsのランダムシーケンスを行い、微生物セルロース合成酵素遺伝子(bacterial BcsA)との相同性から、完全鎖長CelA1と不完全鎖長CelA2がワタセルロース合成酵素cDNAである可能性が報告された (Pearet al., Proceeding of National Academy of Science, USA (1996) 93, 12637-12642)。CelA1については、UDP-glucoseとの結合能が示されたが、CelA2については単にC末端アミノ酸配列が相同性を示すのみにとどまっている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、原核細胞又は真核細胞のセルロースの生産を制御する新たな方法を提供するために、セルロース合成酵素をコードするDNA、これを含む組換えDNA、前記DNAで形質転換された形質転換細胞、及び細胞のセルロース合成を制御する方法を提供することを課題とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、まずワタ繊維細胞がセルロースを蓄積する時期のmRNAを抽出し、それと相補的なcDNAを合成し、cDNAライブラリーを構築した。ライブラリーより任意に選択した750のクローンをランダムにシーケンスした。得られた各クローンの塩基配列ひとつに対して6つのアミノ酸配列を導き、酢酸菌セルロース合成酵素オペロンのセルロース4-β-グルコシルトランスフェラーゼ (bcsA) 遺伝子をアミノ酸配列に置き換えたものと、相同性のあるものを選抜した。その結果、3つの種類あるいはグループに分類される遺伝子を見い出し、それぞれPcsA1、PcsA2、及びPcsA3と命名した (PcsAは、Plant Cellulose Synthase Aの略である)。

【0005】 すなわち本発明は、以下の(A)～(C)のいずれかのタンパク質をコードするDNAである。

(A) 配列番号2に示すアミノ酸配列、又は配列番号2において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。

(B) 配列番号4に示すアミノ酸配列、又は配列番号4において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。

(C) 配列番号8に示すアミノ酸配列、又は配列番号8において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列、及び、配列番号11に示すアミノ酸配列、又は配列番号11において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入若しくは付加されたアミノ酸配列、を含み、かつ、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質。

【0006】 また本発明は、上記DNAの全部又は一部を含む組換えベクター、及び上記DNAで形質転換され

た形質転換細胞を提供する。

【0007】本発明はさらに、前記DNAを細胞に導入し、前記DNAと相同な塩基配列又は相補的な塩基配列を有するRNAを発現させることにより、前記細胞のセルロース合成を制御する方法を提供する。

【0008】尚、配列番号1はPcsA1の、配列番号3はPcsA2の配列に相当する。また、配列番号5はPcsA3の3'側領域、配列番号7はPcsA3の5'側領域、配列番号9はPcsA3の内部領域の配列にそれぞれ相当する。

【0009】上記DNAのうち、PcsA1及びPcsA2は、ワタセルロース合成酵素をコードするDNAであることが、真核細胞（動物細胞及び酵母）における発現によって証明された。また、それらに対する抗体は、無細胞系におけるワタセルロース合成酵素活性をも阻害することが示された。さらに、PcsA1及びPcsA2と異なるPcsA3がさらに見い出された。これらは、ランダムシーケンスで得られたクローンの段階ではいずれも不完全長であり、コード領域の5'部分を含んでいなかったため、PCRを用いた5'RACE法により完全長の5'部分の配列を単離しそのシーケンスを決定した。この操作でPcsA1及びPcsA2に関しては、不完全長クローンに対応する5'部分の配列が得られた。

【0010】一方、PcsA3に関しては、同じPcsA3のグループに属すると思われる別のクローンの5'部分の配列が得られた。両者は相同性が非常に高く、進化の過程で、比較的最近、同じ遺伝子から重複によりマルチジーン化したものと思われる。よって両者を対応する部分で結合し、融合遺伝子を構築した後発現させたとしても、生産された酵素の活性機能には影響はないと考えられる。

【0011】PcsA1、PcsA2ではさらに完全長クローンを得るために、5'部分の配列と不完全長クローンの3'部分の配列よりプライマーを設計しPCRを行ない、ORFを含むクローンを得た。RACE法を行なう際に用いる錠型は、mRNAより合成したcDNA、ファージライブラリーのいずれでもよく、ファージライブラリーを用いる場合にはベクター中の配列を5'側プライマーとして用いることができる。

【0012】またランダムシーケンスの結果、セルロース合成酵素と思われる15個のクローンの中で、最も多量に存在したのはPcsA2の7クローンであった。これらセルロース合成酵素遺伝子で形質転換された真核細胞（動物細胞及び酵母）における発現を見たところ、セルロース合成酵素活性を示した。

【0013】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。

【0014】<1>ワタcDNAライブラリーの作製
ワタcDNAライブラリーを作成するためのmRNAを

抽出する材料としては、セルロースを蓄積する時期のワタ繊維細胞が好ましい。mRNAの抽出法は特に制限はなく、通常の植物からのmRNAの抽出法を採用することができる。cDNAの合成は、例えば、mRNA末端に存在するポリAヌクレオチドに相補的なポリT配列をプライマーとして、逆転写酵素により相補DNAを合成し、DNAポリメラーゼによって二本鎖にすることによって成し得る。その方法は、例えばMolecular Cloning (Maniatisら、Cold Spring Harbour Laboratory) に記載されているが、各社からcDNA合成キットが多数市販されているのでそれらを使用しても良い。ライブラリーは一般的にファージベクターによって構築され、市販されている多数のベクターが使用可能であるが、ベクターからのリクローニングの必要が無く、すぐにシーケンス用プラスミドの調製ができるベクター、例えば入ZAPベクター等を使用することが好ましい。

【0015】<2>cDNAの塩基配列の決定

得られたcDNAライブラリーからランダムにクローンを選択し、クローン中のインサートの塩基配列を決定する。塩基配列の決定は、Maxam-Gilbert法あるいはダイデオキシ法によって行うことができるが、これらのうちではダイデオキシ法がより簡便であり好ましい。

【0016】ダイデオキシ法による塩基配列の決定を行うには、市販されているシーケンス決定キットを用いて行うことができ、更にオートシーケンサーを使うことによって短時間に大量のクローンの配列を決定することができる。配列の決定はインサート全長について行う必要はなく、ホモロジー検索をするのに足ると思われる長さを決定できればよい。例えば、後記実施例では、60塩基以上の配列を決定できた場合に、次に示すホモロジーの検索を行った。

【0017】<3>遺伝子データベースとのホモロジー検索

決定された各cDNAクローンの塩基配列を、遺伝子データベースに登録されている既知のセルロース合成酵素のアミノ酸配列又はこれをコードする遺伝子の塩基配列との間で、ホモロジー検索を行う。セルロース合成酵素としては、酢酸菌セルロース合成酵素オペロンのセルロース4- β -グルコシルトランスフェラーゼ(BcsA)遺伝子がコードする酵素が挙げられる(Wong, H.C. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87, 8130-8134 (1990), ACCESSION No. M37202)。

【0018】データベースとしては、米国ロスアラモス国立研究所、欧州分子生物学研究所、国立遺伝学研究所などから公表されているGenBank、EMBL、DDBJなどを利用することができ、ホモロジー検索用のプログラムとしては、市販のDNA解析ソフト、DNASIS(日立ソフトウェアエンジニアリング)、GENETYX(SDCソフトウェア開発(株))などを購入して使用することができる。また、国立遺伝学研究所の大型計算機と端末とを接続して

の解析や、インターネット上で、NCBI(National Center for Biotechnology Information)へ接続して(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)などを利用した高速なホモロジー検索を行う等の方法もある。ホモロジー検索は、例えば次のようなアルゴリズムによって行う。塩基配列について行う場合は、調べようとする塩基配列をデータベース中の個々の遺伝子配列に対して1塩基ずつずらしながらホモロジーを比較していく、6塩基以上連続して塩基が一致している場合にホモジースコアテーブル(例えばM. Dayhoff, *Atlas of Protein Sequence and Structure*, vol. 5 (1978)等参照)に従ってホモジースコアを計算していく。スコアが一定値以上のものをホモロジーを有する候補として取り上げるように設定し、さらに、調べようとする配列またはデータベース中の遺伝子配列にギャップを入れ、スコアが最大となるように最適化するとい。

【0019】また、アミノ酸配列についてホモロジー検索を行う場合は、調べようとする塩基配列を、相補鎖を含めた6フレームすべてにおいてアミノ酸に変換し、塩基の場合と同様に調べることができる。具体的には前記のBLASTのうちblastxを使用することができる。検索の詳細な手法や条件は、DDBJ News Letter No. 15 (February 1995)を参照すればよい。

【0020】<4>ワタセルロース合成酵素cDNAクローンの単離

上記のようにして得られるクローンは、必ずしもその遺伝子の全スクレオチド配列を含んでいるとは限らない。その場合には、そのクローンをプローブとして用い、ブラークハイブリダイゼーションによるスクーリニングを行うことにより、ライブラリーから完全長遺伝子を含むクローンを得ることができる。具体的な方法は、*Molecular Cloning* 第2版 (Maniatisら, Cold Spring Harbour Laboratory) 12.30~12.40を参照して行えばよい。また、得られたcDNAが5'側を欠いている場合には、そのcDNA配列を5'末端側へ伸長できるようにプライマーを合成し、mRNAを錠型にRT-PCRを行うことによって5'部分を取得することもできる。

【0021】本発明のDNAは、後記実施例に示すように、既知のバクテリアのセルロース合成酵素遺伝子とホモロジーを有する物として得られたものである。さらに UDP-glucose結合ドメインと考えられているアミノ酸配列GlnXXXXXXArgTrp(配列番号12)をコードしており、その近辺に高い相同意を有するものである。上記のようにして得られた本発明のDNAのスクレオチド配列及びこの配列から予想されるアミノ酸配列を配列表配列番号1~10に示す。配列番号1、3はPcsA1及びPcsA2の塩基配列を各々示し、配列番号2、4はPcsA1及びPcsA2の塩基配列から予想されるアミノ酸配列を各々示す。

【0022】また、配列番号5及び配列番号6は、PcsA3の3'側領域を含むクローン(PcsA3-682)の塩基配列及びこの塩基配列から予想されるアミノ酸配列を示す。配列番号7及び配列番号8は、PcsA3の5'側領域を含む別のクローンの5'部分(PcsA3-5')の塩基配列及びこの塩基配列から予想されるアミノ酸配列を、配列番号9及び配列番号10は、このクローンの3'部分(PcsA3-3')の塩基配列及びこの塩基配列から予想されるアミノ酸配列を、各々示す(図1参照)。すなわち、配列番号5はPcsA3の3'側領域、配列番号7はPcsA3の5'側領域、配列番号9はPcsA3の内部領域に相当する。PcsA3-682とPcsA3-3'のオーバーラップしている部分は、塩基配列で9塩基、アミノ酸配列で1アミノ酸異なる。PcsA3-682とPcsA3-3'の塩基配列の比較を、図3及び4に示す。また、PcsA3-682とPcsA3-3'がコードするアミノ酸配列を統合したものを、配列番号11に示す。ちなみにGlnXXXXXXArgTrp(配列番号12)の配列は、PcsA1に関しては、配列番号2におけるアミノ酸番号710から714であり、PcsA2に関しては、配列番号4におけるアミノ酸番号778から782であり、PcsA3に関しては、配列番号6におけるアミノ酸番号356から360である。

【0023】PcsA1は、Pear et al. (*Proceeding of National Academy of Science, USA* (1996) 93, 12637-12642)らが報告したCelAIと、塩基配列が28塩基異なり、その結果コードされるアミノ酸配列も10アミノ酸残基異なる。一般に糖鎖転移酵素は、DNA塩基のポイントミューテーションで、糖鎖特異性や基質特異性が極端に変化するため(Yamamoto and Hakomori, *The Journal of Biological Chemistry* (1990) 265, 19257-19262)、CelAIがセルロース合成酵素活性を有するタンパク質をコードするか否かは不明である。尚、CelAIのコードするアミノ酸配列において48番目のArg、56番目のSer、81番目のAsn、104番目のAla、110番目のSer、247番目のAsp、376番目のAsp、386番目のSer、409番目のArg、649番目のSerは、PcsA1ではそれぞれGln、Ile、Ser、Thr、Pro、Asn、Glu、Pro、His、Glyである。

【0024】また、本発明のPcsA2は、Pear et al.が報告したCelA2と同一の配列を含んでいるが、CelA2は不完全長であり、コード領域全体を含んでいない。CelA2は、配列番号3に示すPcsA2の塩基配列において、塩基番号1083~3311に相当する。配列番号2、4、6、8、10及び11に示すアミノ酸配列はいずれも新規な配列であり、このアミノ酸配列をコードする塩基配列を有する遺伝子はすべて本発明に含まれる。

【0025】また、上記アミノ酸配列のうち、本発明の遺伝子の特性に実質的に影響を与えない限り、アミノ酸残基の欠失、置換、挿入あるいは付加を含んでいてよい。そのようなアミノ酸残基の欠失、置換、挿入あるいは付加は、配列番号2、4、6、8、10及び11に示

すアミノ酸配列をコードするDNAに対して、通常の変異処理によりランダムに、あるいは部位特異的変異法により計画的に改変することによって得られる。上述したように、一般に糖鎖転移酵素は、DNA塩基のポイントミューテーションで、糖鎖特異性や基質特異性が極端に変化するため、改変されたDNAのうち、セルロース合成酵素活性を有するタンパク質をコードするDNAを選択する。セルロース合成酵素活性は、例えば、T. Hayashi: Measuring- β -glucan deposition in plant cell walls, In Modern Methods of Plant Analysis: Plant Fibers, eds. H.F. Linskens and J.F. Jackson, Springer-Verlag, 10: 138-160 (1989)に記載されている方法によって測定することができる。

【0026】また、ワタの品種によって、あるいは自然突然変異等によって、配列表に示す配列と一部異なる配列を有するタンパクあるいは遺伝子を保持するものも存在する可能性があるが、そのような遺伝子も本発明の遺伝子に含まれる。このような遺伝子は、配列番号1、3、5、7又は9に示す塩基配列のうち、コード領域の全部又は一部とストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAとして取得され得る。ここでいう「ストリンジエントな条件」とは、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいう。この条件を明確に数値化することは困難であるが、一例を示せば、相同性が高い核酸同士、例えば80%以上の相同性を有するDNA同士がハイブリダイズし、それより相同性が低い核酸同士がハイブリダイズしない条件が挙げられる。

【0027】<5>本発明の遺伝子の利用

本発明のDNAにより、酵酸菌等の前核細胞、サッカロミセス(*Saccharomyces*)属等に属する酵母、ワタ等の植物細胞やほ乳類の培養細胞等の真核細胞におけるセルロース合成を制御することが可能となる。具体的には、例えば、本発明のDNAの上流域にプロモーターを連結し、適当なベクターに挿入して組換えベクターを構築し、この組換えベクターを細胞に導入することによって、前記細胞のセルロース合成を促進することができる。また、本発明のDNAのアンチセンス遺伝子を細胞に導入することによって、前記細胞のセルロース合成を抑制することができる。プロモーター及びベクターの選択、形質転換方法は、通常の異種遺伝子の発現に利用されているもの及び方法を用いればよい。具体的には、酵母では、Invitrogen社製のタンパク発現用キットPichia Expression Kit及びこのキットに含まれているベクター-pPIC9を用いることができる。また、ほ乳類の培養細胞としては、COS7細胞及びベクターCDM8等を用いることができる。

【0028】

【実施例】以下に、本発明の実施例を説明する。

【0029】<1>ワタからの全RNAの調製

材料としてワタ(*Gossypium hirsutum* L.) Coker312を使用し、開花後16~18日目の繊維細胞を液体窒素中で採取した。ワタ繊維細胞75gを、液体窒素で凍結しながら乳鉢中で十分磨碎した。粉末になったファイバーを蓋付きの遠心管に移し、375mgのDTTを粉末のまま加えた後、90~95°Cに加熱したXT緩衝液(30mM EDTA及び1%SDSを含む0.2Mホウ酸ナトリウムをpH9.0に合わせた後、ジエチルピロカーボネート処理をし、オートクレーブする。この溶液にバナジルリボヌクレオシドを10mMになるよう加える)を200ml加えよく攪拌した。

【0030】これにプロテアーゼKを100mg加え再び攪拌し、40°Cで2時間インキュベートした後16mlの2M KClを加えた。再びよく攪拌した後、氷中に1時間静置し、高速冷却遠心機で20分間(4°C)12,000gで遠心分離した。上清を濾過して浮遊物を除去し、メスシリンドーに移して容量を計り、これを別の遠心管に移し、抽出液量1ml当たり85mgの塩化リチウムを加えて最終濃度2Mにした。この溶液を4°Cで一晩静置した後、沈殿したRNAを20分12,000gで遠心分離した。得られたRNAの沈殿は、冷やした2M塩化リチウムで2回洗浄沈殿させた。

【0031】得られたRNAを、10mMトリス緩衝液(pH7.5)で約2mg/mlになるよう溶解し、5M酢酸カリウムを200mMになるよう加えた後、エタノールを70%になるよう加え-80°Cで10分冷やした。4°C 15,000 rpmで、10分間遠心分離後、沈殿を適量の滅菌水に懸濁してRNA試料とした。このRNA試料を定量した結果、2mgの全RNAが得られた。

【0032】<2>mRNAの精製

上記で得られた全RNAからmRNAをポリ(A)' RNA画分として精製した。精製には、ポリ(A)' RNA精製用オリゴ(dT)固定化ラテックスであるOligotex-dT30<Super>(東洋紡(株)より購入)を用いた。全RNA 1mgの溶液にElution buffer(溶出バッファー: 10mM Tris-HCl(pH7.5), 1mM EDTA, 0.1% SDS)を加えて全量で1mlとし、それにOligotex-dT30<Super>1mlを加え、65°Cで5分間加熱し、氷上で3分間急冷した。これに5M NaCl 0.2mlを加え、37で10分間インキュベートした後15,000 rpmで、3分間遠心分離後、上清を注意深く除去した。

【0033】ペレットをWashing Buffer(洗浄バッファー: 10mM Tris-HCl(pH7.5), 1mM EDTA, 0.5M NaCl, 0.1% SDS)2.5mlに懸濁し、15,000 rpmで、3分間遠心分離後、上清を注意深く除去した。ペレットをTE Buffer 1mlに懸濁して、その後65°Cで5分間加熱した。これを氷上で3分間急冷したのち、15,000 rpmで3分間遠心分離し、上清中のポリ(A)' mRNAを回収した。上記のようにして、1mgの全RNAから約10μgのポリ(A)' mRNAが得られた。そのうちの5μgをcDNAライブラーの作製に使用した。

【0034】<3>cDNAライブラリーの作製

(1) cDNAの合成

上記で得られたmRNAを録型に用い、Stratagene社製 λZAP cDNA合成キットを用いてcDNA合成を行った。以下の溶液をチューブ中に混合した。

5.0 μl 10×1st Strand Buffer (逆転写反応用バッファー)

3.0 μl 10mM 1st Strand Methyl Nucleotide Mix (5-methyl dCTP, dATP, dGTP, dTTP 混合物)

2.0 μl Linker-Primer (リンカー兼プライマー)-H₂O (全体を50 μlになるように調節する。)

1.0 μl RNase Block II (RNase阻害剤)

【0035】上記の各成分はキットの内容物であり、Linker-Primerの配列は、配列番号13に示したとおりである。尚、メチル化されたヌクレオチドを用いるのは、後の制限酵素反応でcDNAが切断されないようにするためである。上記反応液をよく攪拌した後、ポリ(A)' mRNA 5.0 μgを加え、室温で10分放置した。さらに 2.5 μl M-MuLV RTase (逆転写酵素) を加え (この時に全体が50 μlになる)、緩やかに混合した後、軽く遠心して反応液をチューブの底部に落とし、37℃で60分反応させた。

【0036】次に、以下の溶液を順序に従ってチューブ中に混合した。

45.0 μl cDNA一次鎖を含む反応液

40.0 μl 10×2nd Strand Buffer (ポリメラーゼ反応用バッファー)

6.0 μl 2nd Strand Nucleotide Mixture (A, G, C, T混合物)

302.0 μl H₂O

【0037】更に以下の溶液を添加したが、RNaseとDNAポリメラーゼが同時に働き出すようにチューブの壁に酵素液を付着させ、その後手早くボルテックスし、遠心して反応液をチューブの底部に落とし、16℃で150分、cDNA二次鎖の合成反応を行った。

0.8 μl RNase H (RNA分解酵素)

7.5 μl DNAポリメラーゼI (10.0 μ / μl)

【0038】これに400 μlのフェノール：クロロホルム(1:1)混液を加え、よく攪拌した後室温で2分遠心した。上清に再度400 μlのフェノール：クロロホルムを加え、ボルテックスして室温で2分遠心し、その上清に以下の溶液を加えてcDNAを沈殿させた。

【0039】

33.3 μl 3M 酢酸ナトリウム溶液

867.0 μl 100% エタノール

【0040】これを-20℃で一晩放置し、室温で60分遠心した後、80%エタノールで緩やかに洗浄し、2分遠心した。上清を除き、ペレットを乾燥させ、43.5 μlの滅菌水に溶解した。そのうち39.0 μlに以下の溶液を添加し、cDNA末端を平滑化させた。

【0041】

5.0 μl 10×T4 DNA Polymerase Buffer (T4ポリメラーゼ反応用バッファー)

2.5 μl 2.5mM dNTP Mix (A, G, C, T混合物)

3.5 μl T4 DNAポリメラーゼ (2.9 μ / μl)

【0042】37℃で30分反応させ、50 μlの滅菌水を加えた後100 μlのフェノール：クロロホルムを加え、ボルテックスして2分遠心した。上清に100 μlのクロロホルムを加え、ボルテックスして2分遠心し、上清に以下の溶液を加えてcDNAを沈殿させた。

7.0 μl 3M 酢酸ナトリウム溶液

226 μl 100% エタノール

【0043】この溶液を氷上に30分以上放置し、4℃で60分遠心した。沈殿を150 μlの80%エタノールで洗浄し、2分遠心した後乾燥させた。このcDNAのペレットを7.0 μlのEcoRI Adaptor (EcoRIアダプター) 溶液に溶解し、更に、以下の溶液を添加してcDNAの両末端にEcoRIアダプターを連結した。EcoRIアダプターの各々のストランドの配列を配列番号14及び図2に示す。

20 1.0 μl 10×Ligation Buffer (リガーゼ反応用バッファー)

1.0 μl 10mM ATP

1.0 μl T4 DNAリガーゼ

【0044】この反応液を軽く遠心し4℃に一晩以上放置した。この溶液を70℃で30分処理した後軽く遠心し、5分室温に放置し、以下の溶液を加えて、EcoRIアダプターの5'末端をリン酸化した。

1.0 μl 10×Ligation Buffer (リガーゼ反応用バッファー)

30 2.0 μl 10mM ATP

6.0 μl H₂O

1.0 μl T4ポリヌクレオチドキナーゼ (10.0 μ / μl)

【0045】37℃で30分反応させ、70℃で30分処理した後、軽く遠心し室温に5分放置した。さらに以下の溶液を加え、37℃で90分反応させてXbaIでLinker-Primerによって導入されたXbaIサイトを切断したのち室温に放置し冷却させた。

28.0 μl XbaI Buffer

40 3.0 μl XbaI (45 μ / μl)

【0046】この反応液に5.0 μlの10×STE (10mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM NaCl, 1mM EDTA) を加え、ショートフラグメント除去用遠心カラム (Sephadex Spin Column) に添加し、600 gで2分遠心した溶出液を、フラクション1とした。さらにこの操作を3回繰り返し、それぞれフラクション2、3及び4とした。フラクション3、4を合わせ、フェノール：クロロホルム(1:1)を加えよく攪拌し、室温で2分遠心した。上清に等量のクロロホルムを加えよく攪拌し、室温で2分遠心しさらにその上清に2倍の100%エタノールを加え-20℃に一晩放置

した。これを4℃で60分遠心した後等量の80%エタノールで洗浄した。さらに4℃で60分遠心し、得られたcDNAのペレットを10μlの滅菌水に懸濁した。

【0047】(2) cDNAライプラリーの作製

上記で得られた二本鎖cDNAを入ファージ発現ベクターに連結し、組換えベクターを調製した。チューブに以下の溶液を混合し、12℃で一晩、反応させ、2時間室温で放置し、cDNAをベクターに連結させた。

【0048】

2.5 μl	cDNA溶液
0.5 μl	10×Ligation Buffer
0.5 μl	10mM ATP
1.0 μl	λ ZAPベクターDNA (1 μg/μl)
0.5 μl	T4 DNAリガーゼ (4 Weiss u/μl)

【0049】(3) ファージDNAのファージ粒子へのパッケージング

cDNAを挿入したファージベクターを、インビトロ・パッケージングキット (GigapackII Gold packaging extract; Stratagene社製) を用いてファージ粒子にパッケージングした。溶解した直後の凍結-融解エキス (Freeze / Thaw extract) に組換えファージ溶液を加え、氷上に置き、すぐに15μlの超音波処理工キス (Sonic extract) を加え、ビベッティングしてよく混合した。これを軽く遠心して室温(22℃)に2時間放置した。上記反応液に500μlのファージ希釈バッファー (Phage Dilution Buffer) を加えさらに20μlのクロロホルムを加え、混合した。ライプラリーのタイマーを測定するために、500μlの水相の内2μlを18μlのSM buffer (1 L中、NaCl 5.8g, MgSO₄·7H₂O 2g, 1M Tris-HCl (pH7.5) 50ml, 2%ゼラチン 5ml) で1:10に希釈した。1μlの希

大腸菌XL1-Blue培養液 (OD₆₀₀=0.1)

増幅後のファージ溶液

ヘルパーファージR408

【0052】上記混合液に5mlの2×YT培地を加え、37℃で3時間振とう培養して、70℃で20分熱処理した後4000 gで5分遠心した。上清をデカントし、滅菌チューブへ移した。これを遠心し、上清を100倍希釈した溶液20μlとOD₆₀₀が1.0になるまで培養した大腸菌XL1-Blueの培養液200μlを混合し、37℃で15分感染させた。1~100μlの培養液を、アンピシリンを含むLBプレートにプレーティングした後、37℃で一晩培養した。出現したコロニーをランダムに選択して、グリセロールを加えて-80℃で保存した。

【0053】(6) プラスミドの調製

プラスミドの調製は、Promega社製のMagic mini-prepキットを用いて行った。-80℃で保存しておいたプラスミドを保持する大腸菌の培養液を、5mlの2×YT培地に植菌し、37℃で一晩培養した。5分間遠心(4,000 rpm, 4℃)して上清をデカントにより除去し、菌体ペレットにTEバッファーを1ml加えボルテックスした。菌体懸濁

液と1μlのファージ原液をそれぞれ、OD₆₀₀が0.5になるまで培養した大腸菌 PLK-F'株の培養液200μlと共にブレーティングした。すなわち、大腸菌 PLK-F'株とファージ溶液を混合し、37℃で15分培養し、これを2~3mlのトップアガー(48℃)に加え、直ちに37℃に温めたNZYアガーブレートへ重層した。37℃で一晩培養し、出現したブラークを数えてタイマーを算出した。その結果、タイマーは 1.2×10^6 pfu/mlであった。

【0050】(4) ライプラリーの増幅

10 遠心チューブに約50,000の組み換えバクテリオファージを含むパッケージング溶液と、OD₆₀₀が0.5になるまで培養した大腸菌 PLK-F'株の培養液600μlを加え、37℃で15分培養した。この培養液に、溶解後48℃に保つておいた6.5mlのトップアガーを加え、約37℃に温めておいた150mm NZY ブレートに重層し、37℃で5~8時間培養した。各ブレートに10mlのSM Bufferを加え、4℃で一晩ゆっくり振とうさせながら培養した。各ブレート中のSM Bufferを滅菌したポリプロピレンチューブに集め、更に各ブレートを2mlのSM bufferでリソスし、これも同チューブに集めた。全量の5%にあたるクロロホルムを加えて混合し、室温で15分放置し、4,000 gで5分遠心して菌体を除いた。この上清に、全量の0.3%にあたるクロロホルムを加え、4℃で保存した。こうして増幅したライプラリーのタイマーを前記と同様にして測定した結果、 2.3×10^6 pfu/mlであった。

【0051】(5) ファージDNAからのプラスミドの切り出し組換えファージDNAから、プラスミド部分のインビボ切りだし (In vivo Excision) を行った。50mlのコニカルチューブ中に以下のものを混合し、37℃で15分感染させた。

200 μl

200 μl (>1×10⁵ ファージ粒子)

1 μl (>1×10⁶ pfu/ml)

液をエッペンドルフチューブに移し、5分間遠心(5,000 rpm, 4℃)して上清をデカントにより除去した。

【0054】菌体ペレットに300μlのCell Resuspension Solution (細胞懸濁用溶液) を加えよく懸濁し、エッペンドルフチューブに移した。これを2分間ミキサーで攪拌し、300μlのCell Lysis Solution (細胞溶解用溶液) を加え透明になるまで攪拌した。さらに300μlのNeutralization Solution (中和用溶液) を加え、手で振って攪拌した後、10分間遠心(15,000 rpm)した。

【0055】上清のみを新しいエッペンドルフチューブ(1.5ml)に移した。吸引管にコック、ミニカラム、シリジン (注射器) の順で接続し、シリジンにレジンを1ml入れた。上記上清をこのシリジンの中へ注入し良く攪拌した後、吸引した。Column Wash Solution (カラム洗浄用溶液) を2ml加え吸引して洗浄し、乾燥のため1~2分そのまま吸引しておいた。ミニカラムを取り外し、新しいエッペンドルフチューブ(1.5ml)内にセットし

た。65~70℃に温めた滅菌水100μlをミニカラムに注入し、1分間エッペンドルフチューブごと遠心(5,000 rpm)した。溶出液をエッペンドルフチューブに移し、3M 酢酸ナトリウム水溶液を5μl加え、冷エタノールを250μl加えた。これを遠心し(15000 rpm, 25分)、上清を捨て、沈殿に70%エタノールを1ml加え、再び遠心した(15000 rpm, 3分)。エタノールを完全に取り除き、チューブをデシケーター中でパキュームドライした。沈殿を20μlの滅菌水に良く溶かし、-20℃で保存した。この溶液1μlを取って、ボリュームマーカーと一緒に電気泳動してプラスミドDNAを定量した。

【0056】<4>cDNAの塩基配列の決定及び遺伝子データベースとのホモロジー検索

(1) cDNAの塩基配列の決定

cDNAの塩基配列解析は、アプライドバイオシステムズ社(ABI)製DNAオートシーケンサー373Aを用いて行った。シーケンス反応は同社製Dye Primer Cycle SequencingキットによりT3プライマーを用いて付属の説明書に従って行った。ランダムに選択した約750個のクローンについて、塩基配列の決定を行った。

【0057】(2) ホモロジー検索

約750個のクローンの部分配列を、BlastXにより、コンピューター検索した。その結果、3個のクローンがバクテリアセルロース合成酵素サブユニットのホモログであったので、その完全長クローンの単離を試みた。

【0058】<5>完全長クローンの単離

(1) 5' RACE

ホモロジー検索の結果、得られたホモログクローンは不完全長だったため、5'末端側へ伸長できるように、プライマーを合成し、mRNAを錆型にRT-PCRを行なった。

【0059】(1-a) first-strand DNAの合成

以下の溶液をチューブ中に混合した。

0.5μl 10μmol gene-specific primer1

1μg total RNA

DEPC-treated H₂O (全体を9μlになるように調節する)

【0060】gene-specific primer1として、PcsA1用には配列番号15記載の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを、PcsA2用には配列番号16記載の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを、PcsA3用には配列番号17記載の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを用いた。

【0061】上記反応液を緩やかに混合した後、軽く遠心して反応液をチューブの底部に落とし、70℃で10分放置しすぐに氷冷した。次に、以下の溶液をチューブ中に混合した。

5×RT Buffer 5μl

25mM MgCl₂ 2.5μl

2mM dNTP mix 5μl

0.1M DTT 2.5μl

H₂O (全体が24μlになるように加える)

【0062】緩やかに攪拌した後、軽く遠心して反応液をチューブの底部に落とし、42℃で1分置いた。そこに1μl SuperScriptII RT (逆転写酵素 GIBCO BRL) を加え、緩やかに混合した後、42℃で50分反応させた。その後70℃で15分置き、反応を停止させた。軽く遠心して反応液をチューブの底部に落とした後、37℃に置いた。そこに1μl RNase H (東洋紡)を加え、37℃で30分反応させた。

【0063】続いて、反応液中に含まれる、過剰のプライマーやヌクレオチドを除くために、ベーリングー社製の精製カラム、Quick Spin Columns を用いてゲルろ過を行なった。まず、カラムのtipを取り、1100×gで2分間遠心してbufferを捨てた。カラムの中央に上記反応液を入れ、1100×gで4分間遠心し、溶液を回収した。

【0064】(1-b) Poly(dC) tailing

得られた溶液から5μl取り、以下の溶液を加えた。

5μl 5×CoCl₂ Buffer

2.5μl 2mM dCTP

H₂O (全体を24μlになるように調節する)

【0065】上記反応液を良く混合し、94℃で3分間置いた。軽く遠心してチューブの底部に落として、氷上に置いた。そこにターミナルトランスクレオチドTdT (東洋紡)を1μl加えて軽く混合し、37℃で10分間反応させた。引き続き65℃で10分間置いて反応を停止させた。

【0066】(1-c) PCR反応

上記反応液から、2.5μl取り、以下の溶液を加えた。

2.5μl 10×PCR Buffer

2.5μl 2mM dNTP mix

0.5μl Gene-specific primer2

0.5μl Abridged Anchor Primer (GIBCO BRL)

0.5μl Advantage KlenTaq Polymerase Mix (Clontech)

H₂O (全体を25μlになるように調節する)

【0067】Gene-specific primer2としては、PcsA1用には配列番号18記載の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを、PcsA2用には配列番号19記載の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを、PcsA3用には配列番号20記載の塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを用いた。

【0068】0.2mlチューブに入れ、以下の条件でPCR反応を行なった。

PAD	94℃	90秒
30サイクル	94℃	30秒
	60~68℃	30~60秒
	68℃	180秒
Final	68℃	7分
Hold	4℃	

【0069】反応液のアガロースゲル電気泳動を行ない、最も大きいサイズ(PcsA1で約1.8K, PcsA2で約2K, PcsA3で約2.2K)の部分のDNAをゲルから抽出した。抽出に

15

は CLONTECH 社のGENO-BIND を用い、そのプロトコールに従った。こうして得られたDNAに Poly(dC) tailing を行ない、これをテンプレートとしてPCR反応を行なった。条件および反応液組成は上記と同じである。

【0070】(2) クローニング

(2-a) 5' RACEのTAクローニング

得られたPCR反応液から、Invitrogen社の TA Cloning Kit を用いて、そのプロトコールに従い、クローニングを行なった。上記で得られたPCR反応液中1.5μl に以下の溶液を加えた。

0.5μl 10×Ligation Buffer
1μl pCRII vector
0.5μl T4 DNA Ligase
1.5μl dH₂O

【0071】14℃で一晩反応させた。その反応液から2μlを大腸菌コンビテントセル (JM109) 25μlに加え、30分間氷上においていた後、42℃で30秒間ヒートショックを与えた。氷上で2分間静置した後、SOB培地を450μl加えて200rpm37℃で1時間振とう培養した。これを、Amp/Xgal/IPTG プレートにまき、37℃で一晩静置培養した。得られたコロニーから前記の方法によりプラスミドを抽出した。

【0072】(2-b) 完全長 cDNA のクローニング

ABI 社製の DNA Sequencer 377 を用いてプロトコールに従って行なった。シーケンス反応は同社製 Dye Terminator Cycle Sequencing キットにより M13 プライマー及び合成オリゴマーをプライマーとして用いて行なった。シーケンスの結果PcsA3に関しては、同じPcsA3の仲間ではあるが配列のわずかに異なる（アミノ酸で1箇所）別のクローンが単離されてきたことがわかった（図3、4参照）。PcsA3の3'側領域を含むクローン (PcsA3-682) の塩基配列及びこの塩基配列から予想されるアミノ酸配列を、配列番号5、6に示す。PcsA3の5'側領域を含む別のクローンの5'部分 (PcsA3-5') の塩基配列

GGTTAGCATA TTGTTGTAG CATTGGTTT TTTCTCAAG GAAGAAGAAG GAGAAAGATA	60
AGTAATGTTT TTGAGA ATG ATG GAA TCT GGG GTT CCT GTT TGC CAC ACT	109
Met Met Glu Ser Gly Val Pro Val Cys His Thr	
1 5 10	
TGT GGT GAA CAT GTT GGG TTG AAT GTT AAT GGT GAA CCC TTT GTG GCT	157
Cys Gly Glu His Val Gly Leu Asn Val Asn Gly Glu Pro Phe Val Ala	
15 20 25	
TGC CAT GAA TGT AAT TTC CCT ATT TGT AAG AGT TGT TTT GAG TAT GAT	205
Cys His Glu Cys Asn Phe Pro Ile Cys Lys Ser Cys Phe Glu Tyr Asp	
30 35 40	
CTT AAG GAA GGA CAA AAA GCT TGC TTG CGT TGT GGT ATT CCG TAT GAT	253
Leu Lys Glu Gly Gln Lys Ala Cys Leu Arg Cys Gly Ile Pro Tyr Asp	
45 50 55	
GAA AAC CTG TTG GAC GAT GTC GAG AAG GCC ACC GGC GAT CAA TCG ACA	301
Glu Asn Leu Leu Asp Asp Val Glu Lys Ala Thr Gly Asp Glu Ser Thr	

16

配列及びこの塩基配列から予想されるアミノ酸配列を、配列番号7、8に示す。また、このクローンの3'部分 (PcsA3-3') の塩基配列及びこの塩基配列から予想されるアミノ酸配列を、配列番号9、10に示す。PcsA1, PcsA2に関しては、得られた配列よりORFを含む領域の5'末端および3'末端のプライマーを合成し、PCR 反応を行ない、TAクローニングにより完全長クローンを単離した。条件および反応液組成は上記と同じである。プライマーは、PcsA1用には配列番号21 (5'末端) 及び配列番号22 (3'末端) に示すオリゴヌクレオチドを、PcsA2用には配列番号23 (5'末端) 及び配列番号24 (3'末端) に示すオリゴヌクレオチドを、用いた。結果を、配列番号1～4に示す。

【0073】

【発明の効果】本発明によって、セルコース合成酵素をコードするDNAが提供される。これらのDNAは、原核細胞及び真核細胞へ組み込んで、セルロースの生産を制御する新たな方法を提供する。

【0074】

20 【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：3207

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ワタ (*Gossypium hirsutum* L.)

株名：Coker312

30 配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：77..3001

特徴を決定した方法：S

17

18

60	65	70	75	
ATG GCT GCA CAT TTG AGC AAG TCT CAG GAT GTT GGA ATT CAT GCA AGA				349
Met Ala Ala His Leu Ser Lys Ser Gln Asp Val Gly Ile His Ala Arg				
80	85	90		
CAT ATC AGC AGT GTG TCT ACA TTG GAT AGT GAA ATG ACT GAA GAC AAT				397
His Ile Ser Ser Val Ser Thr Leu Asp Ser Glu Met Thr Glu Asp Asn				
95	100	105		
GGG AAT CCG ATT TGG AAG AAC AGG GTG GAA AGT TGG AAA GAA AAG AAG				445
Gly Asn Pro Ile Trp Lys Asn Arg Val Glu Ser Trp Lys Glu Lys Lys				
110	115	120		
AAC AAG AAG AAG CCT GCA ACA ACT AAG GTT GAA AGA GAG GCT GAA				493
Asn Lys Lys Lys Pro Ala Thr Thr Lys Val Glu Arg Glu Ala Glu				
125	130	135		
ATC CCA CCT GAG CAA CAA ATG GAA GAT AAA CCG GCA CCG GAT GCT TCC				541
Ile Pro Pro Glu Gln Gln Met Glu Asp Lys Pro Ala Pro Asp Ala Ser				
140	145	150	155	
CAG CCC CTC TCG ACT ATA ATT CCA ATC CCG AAA AGC AGA CTT GCA CCA				589
Gln Pro Leu Ser Thr Ile Ile Pro Ile Pro Lys Ser Arg Leu Ala Pro				
160	165	170		
TAC CGA ACC GTG ATC ATT ATG CGA TTG ATC ATT CTC GGT CTT TTC TTC				637
Tyr Arg Thr Val Ile Ile Met Arg Leu Ile Ile Leu Gly Leu Phe Phe				
175	180	185		
CAT TAT CGA GTA ACA AAC CCC GTT GAC AGT GCT TTT GGA CTG TGG CTC				685
His Tyr Arg Val Thr Asn Pro Val Asp Ser Ala Phe Gly Leu Trp Leu				
190	195	200		
ACT TCA GTC ATA TGT GAA ATC TGG TTT GCT TTT TCC TGG GTG TTG GAT				733
Thr Ser Val Ile Cys Glu Ile Trp Phe Ala Phe Ser Trp Val Leu Asp				
205	210	215		
CAG TTC CCT AAG TGG TAT CCT GTT AAC AGG GAA ACA TAC ATT GAC AGA				781
Gln Phe Pro Lys Trp Tyr Pro Val Asn Arg Glu Thr Tyr Ile Asp Arg				
220	225	230	235	
CTG TCT GCA AGA TAT GAA AGA GAA GGT GAA CCT AAT GAA CTT GCT GCA				829
Leu Ser Ala Arg Tyr Glu Arg Glu Gly Glu Pro Asn Glu Leu Ala Ala				
240	245	250		
GTT GAC TTC TTT GTG AGT ACA GTG GAT CCA TTG AAA GAG CCT CCA TTG				877
Val Asp Phe Phe Val Ser Thr Val Asp Pro Leu Lys Glu Pro Pro Leu				
255	260	265		
ATT ACT GCC AAT ACT GTG CTT TCC ATC CTT GCC TTG GAC TAC CCG GTA				925
Ile Thr Ala Asn Thr Val Leu Ser Ile Leu Ala Leu Asp Tyr Pro Val				
270	275	280		
GAT AAG GTC TCT TGT TAT ATA TCT GAT GAT GGT GCG GCG ATG CTG ACA				973
Asp Lys Val Ser Cys Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Ala Ala Met Leu Thr				
285	290	295		
TTT GAA TCT CTA GTA GAA ACA GCC GAC TTT GCA AGA AAG TGG GTT CCA				1021
Phe Glu Ser Leu Val Glu Thr Ala Asp Phe Ala Arg Lys Trp Val Pro				
300	305	310	315	
TTC TGC AAA AAA TTT TCC ATT GAA CCA CGG GCA CCT GAG TTT TAC TTC				1069
Phe Cys Lys Lys Phe Ser Ile Glu Pro Arg Ala Pro Glu Phe Tyr Phe				
320	325	330		
TCA CAG AAG ATT GAT TAC TTG AAA GAT AAA GTG CAG CCC TCT TTT GTA				1117

19

20

Ser Gln Lys Ile Asp Tyr Leu Lys Asp Lys Val Gln Pro Ser Phe Val
 335 340 345
 AAA GAA CGT AGA GCT ATG AAA AGA GAT TAC GAA GAG TAC AAA ATT CGA 1165
 Lys Glu Arg Arg Ala Met Lys Arg Asp Tyr Glu Glu Tyr Lys Ile Arg
 350 355 360
 ATC AAT GCT TTA GTT GCA AAG GCT CAG AAA ACA CCT GAA GAA GGA TGG 1213
 Ile Asn Ala Leu Val Ala Lys Ala Gln Lys Thr Pro Glu Glu Gly Trp
 365 370 375
 ACA ATG CAA GAT GGA ACT CCT TGG CCG GGA AAT AAC CCG CGT GAT CAC 1261
 Thr Met Gln Asp Gly Thr Pro Trp Pro Gly Asn Asn Pro Arg Asp His
 380 385 390 395
 CCT GGC ATG ATT CAG GTT TTC CTT GGA TAT AGC GGT GCT CAT GAC ATC 1309
 Pro Gly Met Ile Gln Val Phe Leu Gly Tyr Ser Gly Ala His Asp Ile
 400 405 410
 GAA GGA AAT GAA CTT CCC CGA CTG GTT TAC GTC TCT AGA GAG AAG AGA 1357
 Glu Gly Asn Glu Leu Pro Arg Leu Val Tyr Val Ser Arg Gln Lys Arg
 415 420 425
 CCT GGC TAC CAA CAC CAC AAA AAG GCT GGT GCT GAA AAT GCT TTG GTT 1405
 Pro Gly Tyr Gln His His Lys Lys Ala Gly Ala Glu Asn Ala Leu Val
 430 435 440
 AGG GTG TCT GCA GTT CTT ACA AAT GCT CCC TTC ATC CTC AAT CTT GAT 1453
 Arg Val Ser Ala Val Leu Thr Asn Ala Pro Phe Ile Leu Asn Leu Asp
 445 450 455
 TGT GAC CAC TAT GTT AAC AAT AGC AAG GCA GTT AGG GAG GCA ATG TGC 1501
 Cys Asp His Tyr Val Asn Asn Ser Lys Ala Val Arg Glu Ala Met Cys
 460 465 470 475
 TTC TTG ATG GAC CCA CAA GTC GGT CGA GAT GTC TGC TAT GTG CAG TTT 1549
 Phe Leu Met Asp Pro Gln Val Gly Arg Asp Val Cys Tyr Val Gln Phe
 480 485 490
 CCT CAA AGA TTT GAT GGC ATA GAT AGG AGT GAT CGA TAT GCC AAT CGG 1597
 Pro Gln Arg Phe Asp Gly Ile Asp Arg Ser Asp Arg Tyr Ala Asn Arg
 495 500 505
 AAC ACA GTT TTC TTT GAT GTT AAC ATG AAA GGT CTT GAT GGA ATC CAA 1645
 Asn Thr Val Phe Phe Asp Val Asn Met Lys Gly Leu Asp Gly Ile Gln
 510 515 520
 GGG CCT GTT TAT GTG GGA ACA GGT TGT GTT TTC AAT AGG CAA GCA CTT 1693
 Gly Pro Val Tyr Val Gly Thr Gly Cys Val Phe Asn Arg Gln Ala Leu
 525 530 535
 TAT GGC TAT GGT CCA CCT TCA ATG CCA AGT TTT CCC AAG TCA TCC TCC 1741
 Tyr Gly Tyr Gly Pro Pro Ser Met Pro Ser Phe Pro Lys Ser Ser Ser
 540 545 550 555
 TCA TCT TGC TCG TGT TGC CCC GGC AAG AAG GAA CCT AAA GAT CCA 1789
 Ser Ser Cys Ser Cys Cys Pro Gly Lys Lys Glu Pro Lys Asp Pro
 560 565 570
 TCA GAG CTT TAT AGG GAT GCA AAA CGG GAA GAA CTT GAT GCT GCC ATC 1837
 Ser Glu Leu Tyr Arg Asp Ala Lys Arg Glu Glu Leu Asp Ala Ala Ile
 575 580 585
 TTT AAC CTT AGG GAA ATT GAC AAT TAT GAT GAG TAT GAA AGA TCA ATG 1885
 Phe Asn Leu Arg Glu Ile Asp Asn Tyr Asp Glu Tyr Glu Arg Ser Met
 590 595 600

21

22

TTC ATT GAA TCT ACA CTA ATG GAG AAT GGA GGA GTG GCT GAA TCT GCC	1933
Leu Ile Ser Gln Thr Ser Phe Glu Lys Thr Phe Gly Leu Ser Ser Val	
605 610 615	
TTC ATT GAA TCT ACA CTA ATG GAG AAT GGA GGA GTG GCT GAA TCT GCC	1981
Phe Ile Glu Ser Thr Leu Met Glu Asn Gly Gly Val Ala Glu Ser Ala	
620 625 630 635	
AAC CCT TCC ACA CTA ATC AAG GAA GCA ATT CAT GTC ATC GGC TGT GGC	2029
Asn Pro Ser Thr Leu Ile Lys Glu Ala Ile His Val Ile Gly Cys Gly	
640 645 650	
TAT GAG GAG AAG ACT GCA TGG GGG AAA GAG ATT GGA TGG ATA TAT GGT	2077
Tyr Glu Glu Lys Thr Ala Trp Gly Lys Glu Ile Gly Trp Ile Tyr Gly	
655 660 665	
TCA GTC ACT GAG GAT ATC TTA ACC GGC TTC AAA ATG CAC TGC CGA GGA	2125
Ser Val Thr Glu Asp Ile Leu Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly	
670 675 680	
TGG AGA TCG ATT TAC TGC ATG CCC TTA AGG CCA GCA TTC AAA GGA TCT	2173
Trp Arg Ser Ile Tyr Cys Met Pro Leu Arg Pro Ala Phe Lys Gly Ser	
685 690 695	
GCA CCC ATC AAT CTG TCT GAT CGG TTG CAC CAG GTT CTT CGA TGG GCT	2221
Ala Pro Ile Asn Leu Ser Asp Arg Leu His Gln Val Leu Arg Trp Ala	
700 705 710 715	
CTT GGA TCT GTT GAA ATT TTC CTA AGC AGG CAT TGC CCT CTA TGG TAT	2269
Leu Gly Ser Val Glu Ile Phe Leu Ser Arg His Cys Pro Leu Trp Tyr	
720 725 730	
GCC TTT GGA GGT GGT CGT CTT AAA TGG CTT CAA AGA CTA GCA TAT ATA	2317
Gly Phe Gly Gly Arg Leu Lys Trp Leu Gln Arg Leu Ala Tyr Ile	
735 740 745	
AAC ACC ATT GTC TAT CCT TTC ACA TCC CTT CCA CTC ATT GCC TAT TGT	2365
Asn Thr Ile Val Tyr Pro Phe Thr Ser Leu Pro Leu Ile Ala Tyr Cys	
750 755 760	
TCA CTA CCA GCA ATC TGT CTT CTC ACA GGA AAA TTT ATC ATA CCA ACG	2413
Ser Leu Pro Ala Ile Cys Leu Leu Thr Gly Lys Phe Ile Ile Pro Thr	
765 770 775	
CTC TCA AAC CTG GCA AGT GTT CTC TTT CTT GGC CTT TTC CTT TCC ATT	2461
Leu Ser Asn Leu Ala Ser Val Leu Phe Leu Gly Leu Phe Leu Ser Ile	
780 785 790 795	
ATC GTG ACT GCT GTT CTC GAG CTC CGA TGG AGT GGT GTC AGC ATT GAG	2509
Ile Val Thr Ala Val Leu Glu Leu Arg Trp Ser Gly Val Ser Ile Glu	
800 805 810	
GAC TTA TGG CGT AAC GAG CAG TTT TGG GTC ATC GGT GGC GTT TCA GCC	2557
Asp Leu Trp Arg Asn Glu Gln Phe Trp Val Ile Gly Gly Val Ser Ala	
815 820 825	
CAT CTC TTT GCC GTC TTC CAA GGT TTC CTT AAG ATG CTT GCG GGC ATT	2605
His Leu Phe Ala Val Phe Gln Gly Phe Leu Lys Met Leu Ala Gly Ile	
830 835 840	
GAC ACC AAC TTT ACT GTC ACT GCC AAA GCA GCT GAT GAT GCA GAT TTT	2653
Asp Thr Asn Phe Thr Val Thr Ala Lys Ala Ala Asp Asp Ala Asp Phe	
845 850 855	
GGT GAG CTC TAC ATT GTG AAA TGG ACT ACA CTT CTA ATC CCT CCA ACA	2701
Gly Glu Leu Tyr Ile Val Lys Trp Thr Leu Leu Ile Pro Pro Thr	

23

24

860	865	870	875	
ACA CTC CTC ATC GTC AAC ATG GTT GGT GTC GTT GCC GGA TTC TCC GAT				2749
Thr Leu Leu Ile Val Asn Met Val Gly Val Val Ala Gly Phe Ser Asp				
880	885	890		
GCC CTC AAC AAA GGG TAC GAA GCT TGG GGA CCA CTC TTT GGC AAA GTG				2797
Ala Leu Asn Lys Gly Tyr Glu Ala Trp Gly Pro Leu Phe Gly Lys Val				
895	900	905		
TTC TTT TCC TTC TGG GTC ATC CTC CAT CTT TAT CCA TTC CTC AAA GGT				2845
Phe Phe Ser Phe Trp Val Ile Leu His Leu Tyr Pro Phe Leu Lys Gly				
910	915	920		
CTT ATG GGA CGC CAA AAC AGG ACA CCA ACC ATT GTT GTC CTT TGG TCA				2893
Leu Met Gly Arg Gin Asn Arg Thr Pro Thr Ile Val Val Leu Trp Ser				
925	930	935		
GTG TTG TTG GCT TCT GTC TTC TCT CTT GTT TGG GTT CCG AAC CCG				2941
Val Leu Leu Ala Ser Val Phe Ser Leu Val Trp Val Arg Ile Asn Pro				
940	945	950	955	
TTT GTC AGC ACC GCC GAT AGC ACC ACC GTG TCA CAG AGC TGC ATT TCC				2989
Phe Val Ser Thr Ala Asp Ser Thr Thr Val Ser Gin Ser Cys Ile Ser				
960	965	970		
ATT GAT TGT TGATGATATT ATGTGTTCT TAGAATTGAA ATCATTGCAA				3038
Ile Asp Cys				
GTAAGTGGAC TGAAACATGT CTATTGACTA AGTTTGAAAC AGTTTGTACC CATTATTC				3098
TTAGCAGTGT GTAATTTCC TAAACAATGC TATGAACATAT ACATATTCA TTGATATTCA				3158
CATTAATGA AACTACATCA GTCTGCAGAA AAAAAAAA AAAAAAAA				3207

【0075】配列番号：2

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：974

配列の種類：タンパク質

配列の型：アミノ酸

配列

Met	Met	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Val	Cys	His	Thr	Cys	Gly	Glu	His	Val
1				5				10				15			
Gly	Leu	Asn	Val	Asn	Gly	Glu	Pro	Phe	Val	Ala	Cys	His	Glu	Cys	Asn
					20			25			30				
Phe	Pro	Ile	Cys	Lys	Ser	Cys	Phe	Glu	Tyr	Asp	Leu	Lys	Glu	Gly	Gln
					35			40			45				
Lys	Ala	Cys	Leu	Arg	Cys	Gly	Ile	Pro	Tyr	Asp	Glu	Asn	Leu	Leu	Asp
					50			55			60				
Asp	Val	Glu	Lys	Ala	Thr	Gly	Asp	Gln	Ser	Thr	Met	Ala	Ala	His	Leu
					65			70			75			80	
Ser	Lys	Ser	Gln	Asp	Val	Gly	Ile	His	Ala	Arg	His	Ile	Ser	Ser	Val
					85			90			95				
Ser	Thr	Leu	Asp	Ser	Glu	Met	Thr	Glu	Asp	Asn	Gly	Asn	Pro	Ile	Trp
					100			105			110				
Lys	Asn	Arg	Val	Glu	Ser	Trp	Lys	Glu	Lys	Lys	Asn	Lys	Lys	Lys	Lys
					115			120			125				
Pro	Ala	Thr	Thr	Lys	Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Ile	Pro	Pro	Glu	Gln
					130			135			140				
Gln	Met	Glu	Ast	Lys	Pro	Ala	Pro	Asp	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Thr
					145			150			155			160	
Ile	Ile	Pro	Ile	Pro	Lys	Ser	Arg	Leu	Ala	Pro	Tyr	Arg	Thr	Val	Ile
					165			170			175				

25

26

Ile Met Arg Leu Ile Ile Leu Gly Leu Phe Phe His Tyr Arg Val Thr
 180 185 190
 Asn Pro Val Asp Ser Ala Phe Gly Leu Trp Leu Thr Ser Val Ile Cys
 195 200 205
 Glu Ile Trp Phe Ala Phe Ser Trp Val Leu Asp Gln Phe Pro Lys Trp
 210 215 220
 Tyr Pro Val Asn Arg Glu Thr Tyr Ile Asp Arg Leu Ser Ala Arg Tyr
 225 230 235 240
 Glu Arg Glu Gly Glu Pro Asn Glu Leu Ala Ala Val Asp Phe Phe Val
 245 250 255
 Ser Thr Val Asp Pro Leu Lys Glu Pro Pro Leu Ile Thr Ala Asn Thr
 260 265 270
 Val Leu Ser Ile Leu Ala Leu Asp Tyr Pro Val Asp Lys Val Ser Cys
 275 280 285
 Tyr Ile Ser Asp Asp Gly Ala Ala Met Leu Thr Phe Glu Ser Leu Val
 290 295 300
 Glu Thr Ala Asp Phe Ala Arg Lys Trp Val Pro Phe Cys Lys Lys Phe
 305 310 315 320
 Ser Ile Glu Pro Arg Ala Pro Glu Phe Tyr Phe Ser Gln Lys Ile Asp
 325 330 335
 Tyr Leu Lys Asp Lys Val Gln Pro Ser Phe Val Lys Glu Arg Arg Ala
 340 345 350
 Met Lys Arg Asp Tyr Glu Glu Tyr Lys Ile Arg Ile Asn Ala Leu Val
 355 360 365
 Ala Lys Ala Gln Lys Thr Pro Glu Glu Gly Trp Thr Met Gln Asp Gly
 370 375 380
 Thr Pro Trp Pro Gly Asn Asn Pro Arg Asp His Pro Gly Met Ile Gln
 385 390 395 400
 Val Phe Leu Gly Tyr Ser Gly Ala His Asp Ile Glu Gly Asn Glu Leu
 405 410 415
 Pro Arg Leu Val Tyr Val Ser Arg Glu Lys Arg Pro Gly Tyr Gln His
 420 425 430
 His Lys Lys Ala Gly Ala Glu Asn Ala Leu Val Arg Val Ser Ala Val
 435 440 445
 Leu Thr Asn Ala Pro Phe Ile Leu Asn Leu Asp Cys Asp His Tyr Val
 450 455 460
 Asn Asn Ser Lys Ala Val Arg Glu Ala Met Cys Phe Leu Met Asp Pro
 465 470 475 480
 Gln Val Gly Arg Asp Val Cys Tyr Val Gln Phe Pro Gln Arg Phe Asp
 485 490 495
 Gly Ile Asp Arg Ser Asp Arg Tyr Ala Asn Arg Asn Thr Val Phe Phe
 500 505 510
 Asp Val Asn Met Lys Gly Leu Asp Gly Ile Gln Gly Pro Val Tyr Val
 515 520 525
 Gly Thr Gly Cys Val Phe Asn Arg Gln Ala Leu Tyr Gly Tyr Gly Pro
 530 535 540
 Pro Ser Met Pro Ser Phe Pro Lys Ser Ser Ser Ser Cys Ser Cys
 545 550 555 560
 Cys Cys Pro Gly Lys Lys Glu Pro Lys Asp Pro Ser Gln Leu Tyr Arg
 565 570 575

27

28

Asp Ala Lys Arg Glu Glu Leu Asp Ala Ala Ile Phe Asn Leu Arg Glu		
580	585	590
Ile Asp Asn Tyr Asp Glu Tyr Glu Arg Ser Met Leu Ile Ser Gin Thr		
595	600	605
Ser Phe Glu Lys Thr Phe Gly Leu Ser Ser Val Phe Ile Glu Ser Thr		
610	615	620
Leu Met Glu Asn Gly Gly Val Ala Glu Ser Ala Asn Pro Ser Thr Leu		
625	630	635
Ile Lys Glu Ala Ile His Val Ile Gly Cys Gly Tyr Glu Glu Lys Thr		
645	650	655
Ala Trp Gly Lys Glu Ile Gly Trp Ile Tyr Gly Ser Val Thr Glu Asp		
660	665	670
Ile Leu Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly Trp Arg Ser Ile Tyr		
675	680	685
Cys Met Pro Leu Arg Pro Ala Phe Lys Gly Ser Ala Pro Ile Asn Leu		
690	695	700
Ser Asp Arg Leu His Gin Val Leu Arg Trp Ala Leu Gly Ser Val Glu		
705	710	715
Ile Phe Leu Ser Arg His Cys Pro Leu Trp Tyr Gly Phe Gly Gly		
725	730	735
Arg Leu Lys Trp Leu Gln Arg Leu Ala Tyr Ile Asn Thr Ile Val Tyr		
740	745	750
Pro Phe Thr Ser Leu Pro Leu Ile Ala Tyr Cys Ser Leu Pro Ala Ile		
755	760	765
Cys Leu Leu Thr Gly Lys Phe Ile Ile Pro Thr Leu Ser Asn Leu Ala		
770	775	780
Ser Val Leu Phe Leu Gly Leu Phe Leu Ser Ile Ile Val Thr Ala Val		
785	790	795
Leu Glu Leu Arg Trp Ser Gly Val Ser Ile Glu Asp Leu Trp Arg Asn		
805	810	815
Glu Gin Phe Trp Val Ile Gly Gly Val Ser Ala His Leu Phe Ala Val		
820	825	830
Phe Gin Gly Phe Leu Lys Met Leu Ala Gly Ile Asp Thr Asn Phe Thr		
835	840	845
Val Thr Ala Lys Ala Ala Asp Asp Ala Asp Phe Gly Glu Leu Tyr Ile		
850	855	860
Val Lys Trp Thr Thr Leu Leu Ile Pro Pro Thr Thr Leu Leu Ile Val		
865	870	875
Asn Met Val Gly Val Val Ala Gly Phe Ser Asp Ala Leu Asn Lys Gly		
885	890	895
Tyr Glu Ala Trp Gly Pro Leu Phe Gly Lys Val Phe Phe Ser Phe Trp		
900	905	910
Val Ile Leu His Leu Tyr Pro Phe Leu Lys Gly Leu Met Gly Arg Gin		
915	920	925
Asn Arg Thr Pro Thr Ile Val Val Leu Trp Ser Val Leu Leu Ala Ser		
930	935	940
Val Phe Ser Leu Val Trp Val Arg Ile Asn Pro Phe Val Ser Thr Ala		
945	950	955
Asp Ser Thr Thr Val Ser Gin Ser Cys Ile Ser Ile Asp Cys		
965	970	

【0076】配列番号：3
 配列の長さ：3311
 配列の型：核酸
 鎮の数：二本鎮
 トポロジー：直鎖状
 配列の種類：cDNA to mRNA
 起源

生物名：ワタ (*Gossypium hirsutum L.*)
 株名：Coker312
 配列の特徴
 特徴を表す記号：CDS
 存在位置：23..3142
 特徴を決定した方法：S

配列

CTTCGTTCT TTTGGTTTG CC ATG GCT TCA ACC ACC ATG GCC GCT GGC TTT	52
Met Ala Ser Thr Thr Met Ala Ala Gly Phe	
1 5 10	
GGT TCA CTT GCT GTT GAC GAG AAT CGG GGA TCA TCG ACA CAT CAA TCA	100
Gly Ser Leu Ala Val Asp Glu Asn Arg Gly Ser Ser Thr His Gln Ser	
15 20 25	
TCA ACG AAA ATA TGC AGG GTG TGT GGG GAT AAG ATC GGG CAA AAG GAA	148
Ser Thr Lys Ile Cys Arg Val Cys Gly Asp Lys Ile Gly Gln Lys Glu	
30 35 40	
AAC GGA CAA CCG TTC GTG GCT TGT CAT GTC TGT GCT TTC CCG GTT TGC	196
Asn Gly Gln Pro Phe Val Ala Cys His Val Cys Ala Phe Pro Val Cys	
45 50 55	
CGT CCT TGT TAT GAA TAT GAA AGG AGT GAA GGA AAC CAG TGC TGT CCT	244
Arg Pro Cys Tyr Glu Tyr Arg Ser Glu Gly Asn Gln Cys Cys Pro	
60 65 70	
CAG TGC AAT ACT CGC TAT AAG CGT CAC AAA GGT AGT CCA AGA ATT TCA	292
Gln Cys Asn Thr Arg Tyr Lys Arg His Lys Gly Ser Pro Arg Ile Ser	
75 80 85 90	
GGA GAT GAA GAA GAT GAT TCA GAT CAA GAT GAT TTT GAT GAT GAA TTT	340
Gly Asp Glu Glu Asp Asp Ser Asp Gln Asp Asp Phe Asp Asp Glu Phe	
95 100 105	
CAG ATT AAG AAC CGC AAG GAT GAC TCC CAT CCA CAA CAT GAA AAT GAG	388
Gln Ile Lys Asn Arg Lys Asp Asp Ser His Pro Gln His Glu Asn Glu	
110 115 120	
GAA TAT AAT AAT AAT CAT CAA TGG CAT CCC AAT GGT CAA GCT TTC	436
Glu Tyr Asn Asn Asn His Gln Trp His Pro Asn Gly Gln Ala Phe	
125 130 135	
TCA GTT GCC GGA AGC ACG GCG GGG AAG GAT TTG GAA GGG GAT AAA GAG	484
Ser Val Ala Gly Ser Thr Ala Gly Lys Asp Leu Glu Gly Asp Lys Glu	
140 145 150	
ATT TAC GGA AGC GAA GAA TGG AAA GAA AGA GTT GAG AAA TGG AAA GTC	532
Ile Tyr Gly Ser Glu Glu Trp Lys Glu Arg Val Glu Lys Trp Lys Val	
155 160 165 170	
AGG CAA GAA AAA AGA GGT TTG GTA AGC AAC GAT AAT GGC GGA AAT GAT	580
Arg Gln Glu Lys Arg Gly Leu Val Ser Asn Asp Asn Gly Gly Asn Asp	
175 180 185	
CCT CCT GAA GAA GAT GAT TAT CTC TTG GCT GAA GCT CGC CAG CCT CTA	628
Pro Pro Glu Glu Asp Asp Tyr Leu Leu Ala Glu Ala Arg Gln Pro Leu	
190 195 200	
TGG CGA AAA GTG CCA ATT TCG TCA AGT CTG ATA AGC CCT TAC CGG ATA	676
Trp Arg Lys Val Pro Ile Ser Ser Leu Ile Ser Pro Tyr Arg Ile	
205 210 215	

31

32

GTC ATC GTC CTC CGA TTC TTC ATC CTC GCA TTT TTC CTC CGG TTC CGT	724
Val Ile Val Leu Arg Phe Phe Ile Leu Ala Phe Phe Leu Arg Phe Arg	
220 225 230	
ATT CTA ACA CCC GCC TAC GAC GCT TAC CCG TTA TGG CTA ATC TCT GTC	772
Ile Leu Thr Pro Ala Tyr Asp Ala Tyr Pro Leu Trp Leu Ile Ser Val	
235 240 245 250	
ATC TGC GAA GTT TGG TTC GCC TTC TCC TGG ATT CTC GAT CAG TTC CCT	820
Ile Cys Glu Val Trp Phe Ala Phe Ser Trp Ile Leu Asp Glu Phe Pro	
255 260 265	
AAA TGG TTC CCT ATT ACT CGC GAA ACT TAC CTC GAT CGC CTC TCC TTG	868
Lys Trp Phe Pro Ile Thr Arg Glu Thr Tyr Leu Asp Arg Leu Ser Leu	
270 275 280	
AGG TTC GAA CGT GAA GGA GAG CCC AAT CAA CTT GGC CCC GTC GAC GTC	916
Arg Phe Glu Arg Glu Gly Glu Pro Asn Glu Leu Gly Pro Val Asp Val	
285 290 295	
TTC GTC AGT ACC GTT GAC CTT CTC AAG GAA CCC CCC ATC ATA ACC GCC	964
Phe Val Ser Thr Val Asp Leu Leu Lys Glu Pro Pro Ile Ile Thr Ala	
300 305 310	
AAC GCG GTT CTA TCG ATC TTG GCC GTC GAT TAC CCG GTC GAG AAA GTG	1012
Asn Ala Val Leu Ser Ile Leu Ala Val Asp Tyr Pro Val Glu Lys Val	
315 320 325 330	
TGT TGT TAT GTG TCG GAC GAT GGT GCT TCC ATG CTT CTT TTC GAT TCG	1060
Cys Cys Tyr Val Ser Asp Asp Gly Ala Ser Met Leu Leu Phe Asp Ser	
335 340 345	
TTG TCT GAA ACG GCT GAG TTC GCG AGG AGA TGG GTT CCG TTT TGT AAG	1108
Leu Ser Glu Thr Ala Glu Phe Ala Arg Arg Trp Val Pro Phe Cys Lys	
350 355 360	
AAG CAT AAT GTT GAG CCC AGG GCG CCG GAG TTT TAT TTC AAT GAG AAG	1156
Lys His Asn Val Glu Pro Arg Ala Pro Glu Phe Tyr Phe Asn Glu Lys	
365 370 375	
ATT GAT TAT TTG AAG GAC AAG GTC CAT CCT AGC TTT GTT AAA GAA CGG	1204
Ile Asp Tyr Leu Lys Asp Lys Val His Pro Ser Phe Val Lys Glu Arg	
380 385 390	
AGA GCC ATG AAA AGG GAA TAT GAA GAA TTT AAA GTA AGG ATC AAT GCA	1252
Arg Ala Met Lys Arg Glu Tyr Glu Glu Phe Lys Val Arg Ile Asn Ala	
395 400 405 410	
TTA GTA GCA AAA GCT CAG AAG AAA CCA GAA GAA GGA TGG GTG ATG CAA	1300
Leu Val Ala Lys Ala Glu Lys Lys Pro Glu Glu Gly Trp Val Met Glu	
415 420 425	
GAT GGC ACC CCA TGG CCC GGA AAT AAC ACT CGT GAT CAT CCT GGA ATG	1348
Asp Gly Thr Pro Trp Pro Gly Asn Asn Thr Arg Asp His Pro Gly Met	
430 435 440	
ATT CAG GTC TAT CTA GGA AGT GCC GGT GCA CTC GAT GTG GAT GGC AAA	1396
Ile Glu Val Tyr Leu Glu Ser Ala Glu Ala Leu Asp Val Asp Glu Lys	
445 450 455	
GAG CTG CCT CGA CTT GTC TAT GTT TCT CGT GAG AAA CGA CCT GGT TAT	1444
Glu Leu Pro Arg Leu Val Tyr Val Ser Arg Glu Lys Arg Pro Glu Tyr	
460 465 470	
CAG CAC CAT AAG AAA GCC GGT GCT GAG AAT GCT CTG GTT CGA GTT TCT	1492
Gln His His Lys Lys Ala Glu Ala Glu Asn Ala Leu Val Arg Val Ser	

33

34

475	480	485	490	
GCA GTG CTT ACT AAT GCA CCC TTC ATA-TTG AAT CTG GAT TGT GAT CAT				1540
Ala Val Leu Thr Asn Ala Pro Phe Ile Leu Asn Leu Asp Cys Asp His				
495	500	505		
TAC ATC AAC AAT AGC AAG GCC ATG AGG GAA GCG ATG TGC TTT TTA ATG				1588
Tyr Ile Asn Asn Ser Lys Ala Met Arg Glu Ala Met Cys Phe Leu Met				
510	515	520		
GAT CCT CAG TTT GGA AAG AAG CTT TGT TAT GTT CAA TTT CCA CAG AGA				1636
Asp Pro Gln Phe Gly Lys Lys Leu Cys Tyr Val Gln Phe Pro Gln Arg				
525	530	535		
TTT GAT GGT ATT GAT CGT CAT GAT CGA TAT GCT AAT CGA AAT GTT GTC				1684
Phe Asp Gly Ile Asp Arg His Asp Arg Tyr Ala Asn Arg Asn Val Val				
540	545	550		
TTC TTT GAT ATC AAC ATG TTG GGA TTA GAT GGA CTT CAA GGC CCT GTA				1732
Phe Phe Asp Ile Asn Met Leu Gly Leu Asp Gly Leu Gln Gly Pro Val				
555	560	565	570	
TAT GTA GGC ACA GGG TGT GTT TTC AAC AGG CAG GCA TTG TAT GGC TAC				1780
Tyr Val Gly Thr Gly Cys Val Phe Asn Arg Gln Ala Leu Tyr Gly Tyr				
575	580	585		
GAT CCA CCA GTC TCT GAG AAA CGA CCA AAG ATG ACA TGT GAT TGC TGG				1828
Asp Pro Pro Val Ser Glu Lys Arg Pro Lys Met Thr Cys Asp Cys Trp				
590	595	600		
CCT TCT TGG TGT TGC TGT TGC GGA GGT TCT AGG AAG AAA TCA AAG				1876
Pro Ser Trp Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ser Arg Lys Lys Ser Lys				
605	610	615		
AAG AAA GGT GAA AAG AAG GGC TTA CTC GGA GGT CTT TTA TAC GGA AAA				1924
Lys Lys Gly Glu Lys Lys Gly Leu Leu Gly Leu Leu Tyr Gly Lys				
620	625	630		
AAG AAG AAG ATG ATG GCC AAA AAC TAT GTG AAA AAA GGG TCT GCA CCA				1972
Lys Lys Lys Met Met Gly Lys Asn Tyr Val Lys Lys Gly Ser Ala Pro				
635	640	645	650	
GTC TTT GAT CTC GAA GAA ATC GAA GAA GGG CTT GAA GGA TAC GAA GAA				2020
Val Phe Asp Leu Glu Glu Ile Glu Glu Gly Leu Glu Gly Tyr Glu Glu				
655	660	665		
TTG GAG AAA TCG ACA TTA ATG TCG CAG AAG AAT TTC GAG AAA CGA TTC				2068
Leu Glu Lys Ser Thr Leu Met Ser Gln Lys Asn Phe Glu Lys Arg Phe				
670	675	680		
GGA CAA TCA CCG GTT TTC ATT GCC TCA ACT TTG ATG GAA AAT GGT GGC				2116
Gly Gln Ser Pro Val Phe Ile Ala Ser Thr Leu Met Glu Asn Gly Gly				
685	690	695		
CTT CCT GAA GGA ACT AAT TCC ACA TCA CTG ATT AAA GAG GCC ATT CAC				2164
Leu Pro Glu Gly Thr Asn Ser Thr Ser Leu Ile Lys Glu Ala Ile His				
700	705	710		
GTA ATT AGC TGT GGT TAT GAA GAA AAA ACT GAG TGG GGC AAA GAG ATC				2212
Val Ile Ser Cys Gly Tyr Glu Glu Lys Thr Glu Trp Gly Lys Glu Ile				
715	720	725	730	
GGA TGG ATT TAT GGG TCG GTG ACG GAA GAT ATA TTA ACA GGT TTC AAG				2260
Gly Trp Ile Tyr Gly Ser Val Thr Glu Asp Ile Leu Thr Gly Phe Lys				
735	740	745		
ATG CAT TGT AGA GGG TGG AAA TCG GTT TAT TGT GTA CGG AAA AGA CGG				2308

35

36

Met His Cys Arg Gly Trp Lys Ser Val Tyr Cys Val Pro Lys Arg Pro		
750	755	760
GCA TTC AAA GGG TCC GCT CCA ATC AAT CTC TCG GAT CGG TTG CAC CAA	2356	
Ala Phe Lys Gly Ser Ala Pro Ile Asn Leu Ser Asp Arg Leu His Gln		
765	770	775
GTT TTG AGA TGG GCA CTT GGT TCT GTA GAA ATT TTC CTT AGT CGT CAC	2404	
Val Leu Arg Trp Ala Leu Gly Ser Val Glu Ile Phe Leu Ser Arg His		
780	785	790
TGT CCA CTT TGG TAT GGT TAT GGT GGA AAA CTG AAA TGG CTC GAG AGG	2452	
Cys Pro Leu Trp Tyr Gly Tyr Gly Lys Leu Lys Trp Leu Glu Arg		
795	800	805
810		
CTT GCT TAT ATC AAC ACC ATT GTT TAC CCT TTC ACC TCG ATC CCT TTA	2500	
Leu Ala Tyr Ile Asn Thr Ile Val Tyr Pro Phe Thr Ser Ile Pro Leu		
815	820	825
CTC GCC TAT TGT ACT ATT CCA GCT GTT TGT CTT CTC ACC GGC AAA TTC	2548	
Leu Ala Tyr Cys Thr Ile Pro Ala Val Cys Leu Leu Thr Gly Lys Phe		
830	835	840
ATC ATT CCA ACT CTA AGC AAC CTT ACA AGT GTG TGG TTC TTG GCA CTT	2596	
Ile Ile Pro Thr Leu Ser Asn Leu Thr Ser Val Trp Phe Leu Ala Leu		
845	850	855
TTC CTC TCC ATC ATT GCA ACT GGA GTG CTT GAA CTT CGA TGG AGC GGG	2644	
Phe Leu Ser Ile Ile Ala Thr Gly Val Leu Glu Leu Arg Trp Ser Gly		
860	865	870
GTT AGC ATC CAA GAC TGG TGG CGC AAT GAA CAA TTC TGG GTG ATC GGA	2692	
Val Ser Ile Gln Asp Trp Trp Arg Asn Glu Gln Phe Trp Val Ile Gly		
875	880	885
890		
GGT GTC TCC GCC CAT CTT TTT GCT GTC TTC CAG GGC CTC CTC AAA GTC	2740	
Gly Val Ser Ala His Leu Phe Ala Val Phe Gln Gly Leu Leu Lys Val		
895	900	905
CTA GCT GGA GTA GAC ACC AAC TTC ACC GTA ACA GCA AAA GCA GCA GAC	2788	
Leu Ala Gly Val Asp Thr Asn Phe Thr Val Thr Ala Lys Ala Ala Asp		
910	915	920
GAT ACA GAA TTC GGT GAA CTT TAT CTC TTC AAA TGG ACA ACT CTC TTA	2836	
Asp Thr Glu Phe Gly Glu Leu Tyr Leu Phe Lys Trp Thr Thr Leu Leu		
925	930	935
ATC CCT CCC ACA ACT CTG ATA ATA CTG AAC ATG GTC GGA GTC GTG GCC	2884	
Ile Pro Pro Thr Thr Leu Ile Ile Leu Asn Met Val Gly Val Val Ala		
940	945	950
GGA GTT TCA GAC GCA ATC AAC AAC GGC TAT GGT TCA TGG GGT CCA TTG	2932	
Gly Val Ser Asp Ala Ile Asn Asn Gly Tyr Gly Ser Trp Gly Pro Leu		
955	960	965
970		
TTC GGC AAA CTG TTC TTC GCA TTC TGG GTC ATT CTT CAT CTT TAC CCA	2980	
Phe Gly Lys Leu Phe Phe Ala Phe Trp Val Ile Leu His Leu Tyr Pro		
975	980	985
TTC CTC AAA GGT TTG ATG GGG AGA CAA AAC AGG ACG CCC ACC ATT GTT	3028	
Phe Leu Lys Gly Leu Met Gly Arg Gln Asn Arg Thr Pro Thr Ile Val		
990	995	1000
GTG CTT TGG TCC ATA CTT TTG GCA TCG ATT TTC TCA CTG GTT TGG GTA	3076	
Val Leu Trp Ser Ile Leu Leu Ala Ser Ile Phe Ser Leu Val Trp Val		
1005	1010	1015

37

38

CGG ATC GAT CCC TTC TTG CCC AAA CAA ACA GGT CCA GTT CTT AAA CAA 3124
 Arg Ile Asp Pro Phe Leu Pro Lys Gln Thr Gly Pro Val Leu Lys Gln
 1020 1025 1030
 TGT GGC GTG GAG TGC TAAATGGTGT TTTACAAACC TTTCTTATTAA TTTTATTTTC 3179
 Cys Gly Val Glu Cys
 1035
 CCTTTTGCC ACTACTGTTG ATTTGCTGTG ATTCTAAAAG GGATTATCT TGTTTGTAAA 3239
 AAGTCTCCTA TGATTTGTT GGTTCAATT AATTCTATA TGGTAAAAAA ATATTCTTT 3299
 AAATTAACTA TA 3311

【0077】配列番号：4

配列の長さ：1039

配列の型：アミノ酸

10 トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列

Met Ala Ser Thr Thr Met Ala Ala Gly Phe Gly Ser Leu Ala Val Asp
 1 5 10 15
 Glu Asn Arg Gly Ser Ser Thr His Gln Ser Ser Thr Lys Ile Cys Arg
 20 25 30
 Val Cys Gly Asp Lys Ile Gly Gln Lys Glu Asn Gly Gln Pro Phe Val
 35 40 45
 Ala Cys His Val Cys Ala Phe Pro Val Cys Arg Pro Cys Tyr Glu Tyr
 50 55 60
 Glu Arg Ser Glu Gly Asn Gln Cys Cys Pro Gln Cys Asn Thr Arg Tyr
 65 70 75 80
 Lys Arg His Lys Gly Ser Pro Arg Ile Ser Gly Asp Glu Glu Asp Asp
 85 90 95
 Ser Asp Gln Asp Asp Phe Asp Asp Glu Phe Gln Ile Lys Asn Arg Lys
 100 105 110
 Asp Asp Ser His Pro Gln His Glu Asn Glu Glu Tyr Asn Asn Asn Asn
 115 120 125
 His Gln Trp His Pro Asn Gly Gln Ala Phe Ser Val Ala Gly Ser Thr
 130 135 140
 Ala Gly Lys Asp Leu Glu Gly Asp Lys Glu Ile Tyr Gly Ser Glu Glu
 145 150 155 160
 Trp Lys Glu Arg Val Glu Lys Trp Lys Val Arg Gln Glu Lys Arg Gly
 165 170 175
 Leu Val Ser Asn Asp Asn Gly Gly Asn Asp Pro Pro Glu Glu Asp Asp
 180 185 190
 Tyr Leu Leu Ala Glu Ala Arg Gln Pro Leu Trp Arg Lys Val Pro Ile
 195 200 205
 Ser Ser Ser Leu Ile Ser Pro Tyr Arg Ile Val Ile Val Leu Arg Phe
 210 215 220
 Phe Ile Leu Ala Phe Phe Leu Arg Phe Arg Ile Leu Thr Pro Ala Tyr
 225 230 235 240
 Asp Ala Tyr Pro Leu Trp Leu Ile Ser Val Ile Cys Glu Val Trp Phe
 245 250 255
 Ala Phe Ser Trp Ile Leu Asp Gln Phe Pro Lys Trp Phe Pro Ile Thr
 260 265 270
 Arg Glu Thr Tyr Leu Asp Arg Leu Ser Leu Arg Phe Glu Arg Glu Gly
 275 280 285
 Glu Pro Asn Gln Leu Gly Pro Val Asp Val Phe Val Ser Thr Val Asp

39

40

290	295	300
Leu Leu Lys Glu Pro Pro Ile Ile Thr Ala Asn Ala Val Leu Ser Ile		
305	310	315
Leu Ala Val Asp Tyr Pro Val Glu Lys Val Cys Cys Tyr Val Ser Asp		
325	330	335
Asp Gly Ala Ser Met Leu Leu Phe Asp Ser Leu Ser Glu Thr Ala Glu		
340	345	350
Phe Ala Arg Arg Trp Val Pro Phe Cys Lys Lys His Asn Val Glu Pro		
355	360	365
Arg Ala Pro Glu Phe Tyr Phe Asn Glu Lys Ile Asp Tyr Leu Lys Asp		
370	375	380
Lys Val His Pro Ser Phe Val Lys Glu Arg Arg Ala Met Lys Arg Glu		
385	390	395
Tyr Glu Glu Phe Lys Val Arg Ile Asn Ala Leu Val Ala Lys Ala Gln		
405	410	415
Lys Lys Pro Glu Glu Gly Trp Val Met Gln Asp Gly Thr Pro Trp Pro		
420	425	430
Gly Asn Asn Thr Arg Asp His Pro Gly Met Ile Gln Val Tyr Leu Gly		
435	440	445
Ser Ala Gly Ala Leu Asp Val Asp Gly Lys Glu Leu Pro Arg Leu Val		
450	455	460
Tyr Val Ser Arg Glu Lys Arg Pro Gly Tyr Gln His His Lys Lys Ala		
465	470	475
Gly Ala Glu Asn Ala Leu Val Arg Val Ser Ala Val Leu Thr Asn Ala		
485	490	495
Pro Phe Ile Leu Asn Leu Asp Cys Asp His Tyr Ile Asn Asn Ser Lys		
500	505	510
Ala Met Arg Glu Ala Met Cys Phe Leu Met Asp Pro Gln Phe Gly Lys		
515	520	525
Lys Leu Cys Tyr Val Gln Phe Pro Gln Arg Phe Asp Gly Ile Asp Arg		
530	535	540
His Asp Arg Tyr Ala Asn Arg Asn Val Val Phe Phe Asp Ile Asn Met		
545	550	555
Leu Gln Leu Asp Gly Leu Gln Gly Pro Val Tyr Val Gly Thr Gly Cys		
565	570	575
Val Phe Asn Arg Gln Ala Leu Tyr Gly Tyr Asp Pro Pro Val Ser Glu		
580	585	590
Lys Arg Pro Lys Met Thr Cys Asp Cys Trp Pro Ser Trp Cys Cys Cys		
595	600	605
Cys Cys Gly Gly Ser Arg Lys Lys Ser Lys Lys Lys Gly Glu Lys Lys		
610	615	620
Gly Leu Leu Gly Gly Leu Leu Tyr Gly Lys Lys Lys Lys Met Met Gly		
625	630	635
Lys Asn Tyr Val Lys Lys Gly Ser Ala Pro Val Phe Asp Leu Glu Glu		
645	650	655
Ile Glu Glu Gly Leu Glu Gly Tyr Gln Glu Leu Glu Lys Ser Thr Leu		
660	665	670
Met Ser Gln Lys Asn Phe Glu Lys Arg Phe Gly Gln Ser Pro Val Phe		
675	680	685
Ile Ala Ser Thr Leu Met Glu Asn Gly Gly Leu Pro Glu Gly Thr Asn		

41

42

690	695	700
Ser Thr Ser Leu Ile Lys Glu Ala Ile-His Val Ile Ser Cys Gly Tyr		
705	710	715
Glu Glu Lys Thr Glu Trp Gly Lys Glu Ile Gly Trp Ile Tyr Gly Ser		720
725	730	735
Val Thr Glu Asp Ile Leu Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly Trp		
740	745	750
Lys Ser Val Tyr Cys Val Pro Lys Arg Pro Ala Phe Lys Gly Ser Ala		
755	760	765
Pro Ile Asn Leu Ser Asp Arg Leu His Gin Val Leu Arg Trp Ala Leu		
770	775	780
Gly Ser Val Glu Ile Phe Leu Ser Arg His Cys Pro Leu Trp Tyr Gly		
785	790	795
Tyr Gly Gly Lys Leu Lys Trp Leu Glu Arg Leu Ala Tyr Ile Asn Thr		800
805	810	815
Ile Val Tyr Pro Phe Thr Ser Ile Pro Leu Leu Ala Tyr Cys Thr Ile		
820	825	830
Pro Ala Val Cys Leu Leu Thr Gly Lys Phe Ile Ile Pro Thr Leu Ser		
835	840	845
Asn Leu Thr Ser Val Trp Phe Leu Ala Leu Phe Leu Ser Ile Ile Ala		
850	855	860
Thr Gly Val Leu Glu Leu Arg Trp Ser Gly Val Ser Ile Gin Asp Trp		
865	870	875
Trp Arg Asn Glu Gin Phe Trp Val Ile Gly Gly Val Ser Ala His Leu		880
885	890	895
Phe Ala Val Phe Gin Gly Leu Leu Lys Val Leu Ala Gly Val Asp Thr		
900	905	910
Asn Phe Thr Val Thr Ala Lys Ala Ala Asp Asp Thr Glu Phe Gly Glu		
915	920	925
Leu Tyr Leu Phe Lys Trp Thr Thr Leu Leu Ile Pro Pro Thr Thr Leu		
930	935	940
Ile Ile Leu Asn Met Val Gly Val Val Ala Gly Val Ser Asp Ala Ile		
945	950	955
Asn Asn Gly Tyr Gly Ser Trp Gly Pro Leu Phe Gly Lys Leu Phe Phe		960
965	970	975
Ala Phe Trp Val Ile Leu His Leu Tyr Pro Phe Leu Lys Gly Leu Met		
980	985	990
Gly Arg Gin Asn Arg Thr Pro Thr Ile Val Val Leu Trp Ser Ile Leu		
995	1000	1005
Leu Ala Ser Ile Phe Ser Leu Val Trp Val Arg Ile Asp Pro Phe Leu		
1010	1015	1020
Pro Lys Gin Thr Gly Pro Val Leu Lys Gin Cys Gly Val Glu Cys		
1025	1030	1035

【0078】配列番号：5

配列の長さ：2033

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ワタ(*Gossypium hirsutum* L.)

株名：Coker312

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：1..1857

特徴を決定した方法：S

43

44

配列

CCG ACA TTC GTG AAG GAG CGT CGA GCT ATG AAG AGA GAA TAT GAA GAA	48
Pro Thr Phe Val Lys Gln Arg Arg Ala Met Lys Arg Glu Tyr Glu Glu	
1 5 10 15	
TTC AAG GTT AGG ATA AAT GCA CTT GTA GCC AAA GCC CAA AAG GTT CCT	96
Phe Lys Val Arg Ile Asn Ala Leu Val Ala Lys Ala Gln Lys Val Pro	
20 25 30	
CCA GAA GGG TGG ATC ATG CAA GAT GGG ACA CCA TGG CCA GGA AAC AAT	144
Pro Glu Gly Trp Ile Met Gln Asp Gly Thr Pro Trp Pro Gly Asn Asn	
35 40 45	
ACT AAA GAT CAC CCT GGT ATG ATT CAA GTA TTT CTC GGT CAA AGT GGA	192
Thr Lys Asp His Pro Gly Met Ile Gln Val Phe Leu Gly Gln Ser Gly	
50 55 60	
GGC CAT GAT ACC GAA GGA AAT GAG CTT CCT CGT CTC GTC TAT GTA TCT	240
Gly His Asp Thr Glu Gly Asn Glu Leu Pro Arg Leu Val Tyr Val Ser	
65 70 75 80	
CGA GAG AAA AGG CCT GGT TTC TTG CAT CAC AAG AAA GCT GGT GCC ATG	288
Arg Glu Lys Arg Pro Gly Phe Leu His His Lys Lys Ala Gly Ala Met	
85 90 95	
AAC GCC CTT GTT CGG GTC TCG GGG GTG CTC ACA AAT GCT CCT TTT ATG	336
Asn Ala Leu Val Arg Val Ser Gly Val Leu Thr Asn Ala Pro Phe Met	
100 105 110	
TTG AAC TTG GAT TGT GAC CAT TAT TTA AAT AAC AGC AAG GCT GTA AGA	384
Leu Asn Leu Asp Cys Asp His Tyr Leu Asn Asn Ser Lys Ala Val Arg	
115 120 125	
GAG GCT ATG TGT TTC TTG ATG GAC CCT CAA ATT GGA AGA AAG GTT TGC	432
Glu Ala Met Cys Phe Leu Met Asp Pro Gln Ile Gly Arg Lys Val Cys	
130 135 140	
TAT GTC CAA TTC CCT CAA CGT TTC GAT GGT ATT GAT AGA CAT GAT CGA	480
Tyr Val Gln Phe Pro Gln Arg Phe Asp Gly Ile Asp Arg His Asp Arg	
145 150 155 160	
TAT GCC AAT CGG AAC ACA GTT TTC TTT GAT ATT AAC ATG AAA GGT CTA	528
Tyr Ala Asn Arg Asn Thr Val Phe Phe Asp Ile Asn Met Lys Gly Leu	
165 170 175	
GAT GGT ATA CAA GGC CCT GTA TAT GTC GGC ACG GGG TGT GTT TTC AGA	576
Asp Gly Ile Gln Gly Pro Val Tyr Val Gly Thr Gly Cys Val Phe Arg	
180 185 190	
AGG CAA GCT CTT TAT GGT TAT GAA CCT CCA AAG GGA CCT AAG CGC CCG	624
Arg Gln Ala Leu Tyr Gly Tyr Glu Pro Pro Lys Gly Pro Lys Arg Pro	
195 200 205	
AAA ATG GTA ACC TGT GGT TGC CCT TGT TTT GGA CGC CGC AGA AAG	672
Lys Met Val Thr Cys Gly Cys Pro Cys Phe Gly Arg Arg Arg Lys	
210 215 220	
GAC AAA AAG CAC TCT AAG GAT GGT GGA AAT GCA AAT GGT CTA AGC CTA	720
Asp Lys Lys His Ser Lys Asp Gly Gly Asn Ala Asn Gly Leu Ser Leu	
225 230 235 240	
GAA GCA GCC AAA GAT GAC AAG GAG TTA TTG ATG TCC CAC ATG AAC TTT	768
Glu Ala Ala Lys Asp Asp Lys Glu Leu Leu Met Ser His Met Asn Phe	
245 250 255	
GAA AAG AAA TTT GGA CAA TCA GCC ATT TTT GTA ACT TCA ACA CTG ATG	816

45

46

Glu Lys Lys Phe Gly Gln Ser Ala Ile Phe Val Thr Ser Thr Leu Met			
260	265	270	
GAA CAA GGT GGT GTC CCT CCT TCT TCA AGC CCC GCA GCT TTG CTC AAA			864
Glu Gln Gly Gly Val Pro Pro Ser Ser Ser Pro Ala Ala Leu Leu Lys			
275	280	285	
GAA GCC ATT CAT GTA ATT AGT TGT GGT TAT GAA GAC AAA ACA GAA TGG			912
Glu Ala Ile His Val Ile Ser Cys Gly Tyr Glu Asp Lys Thr Glu Trp			
290	295	300	
GGA AGC GAG CTT GGC TGG ATT TAC GGC TCG ATT ACA GAA GAT ATC TTA			960
Gly Ser Glu Leu Gly Trp Ile Tyr Gly Ser Ile Thr Glu Asp Ile Leu			
305	310	315	320
ACA GGA TTC AAG ATG CAT TGC CGT GGA TGG AGA TCA ATA TAC TGC ATG			1008
Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly Trp Arg Ser Ile Tyr Cys Met			
325	330	335	
CCA AAG TTG CCT GCA TTC AAG GGT TCA GCT CCC ATC AAT CTA TCG GAT			1056
Pro Lys Leu Pro Ala Phe Lys Gly Ser Ala Pro Ile Asn Leu Ser Asp			
340	345	350	
CGT CTA AAC CAA GTC CTT CGA TGG GCA CTC GGT TCT GTT GAA ATT TTC			1104
Arg Leu Asn Gln Val Leu Arg Trp Ala Leu Gly Ser Val Glu Ile Phe			
355	360	365	
TTT AGT CAT CAT TGC CCA GCA TGG TAT GGT TTC AAG GGA GGA AAG CTA			1152
Phe Ser His His Cys Pro Ala Trp Tyr Gly Phe Lys Gly Gly Lys Leu			
370	375	380	
AAA TGG CTT GAA CGA TTC GCA TAT GTC AAC ACA ACC ATC TAC CCC TTC			1200
Lys Trp Leu Glu Arg Phe Ala Tyr Val Asn Thr Thr Ile Tyr Pro Phe			
385	390	395	400
ACA TCT TTA CCA CTT CTC GCC TAT TGT ACC CTA CCG GCA ATC TGT TTA			1248
Thr Ser Leu Pro Leu Leu Ala Tyr Cys Thr Leu Pro Ala Ile Cys Leu			
405	410	415	
CTT ACC GAT AAA TTT ATC ATG CCA CCG ATA AGC ACC TTT GCA AGT CTA			1296
Leu Thr Asp Lys Phe Ile Met Pro Pro Ile Ser Thr Phe Ala Ser Leu			
420	425	430	
TTC TTC ATT GCC TTG TTT CTT TCA ATC TTT GCA ACT GGT ATT CTC GAG			1344
Phe Phe Ile Ala Leu Phe Leu Ser Ile Phe Ala Thr Gly Ile Leu Glu			
435	440	445	
CTA AGG TGG AGT GGA GTA AGC ATT GAA GAA TGG TGG AGG AAT GAG CAA			1392
Leu Arg Trp Ser Gly Val Ser Ile Glu Glu Trp Trp Arg Asn Glu Gln			
450	455	460	
TTT TGG GTC ATC GGT GGC ATT TCG GCA CAT TTG TTC GCT GTT ATC CAA			1440
Phe Trp Val Ile Gly Gly Ile Ser Ala His Leu Phe Ala Val Ile Gln			
465	470	475	480
GGC TTG TTG AAA GTT CTA GCT GGT ATT GAC ACT AAT TTC ACT GTC ACA			1488
Gly Leu Leu Lys Val Leu Ala Gly Ile Asp Thr Asn Phe Thr Val Thr			
485	490	495	
TCC AAG GCA ACT GAT GAC GAG GAG TTC GGG GAA TTG TAT ACT TTC AAA			1536
Ser Lys Ala Thr Asp Asp Glu Glu Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Phe Lys			
500	505	510	
TGG ACA ACC CTT CTA ATT CCT CCT ACT ACC GTC TTA ATC ATC AAT TTA			1584
Trp Thr Thr Leu Leu Ile Pro Pro Thr Thr Val Leu Ile Ile Asn Leu			
515	520	525	

47

48

GTC GGT GTC GTT GCA GGC ATC TCG GAT GCC ATA AAC AAT GGA TAC CAA	1632
Val Gly Val Val Ala Gly Ile Ser Asp-Ala Ile Asn Asn Gly Tyr Gln	
530 535 540	
TCA TGG GGA CCT CTT TTT GGG AAG CTC TTC TIC TCT TIC TGG GTG ATT	1680
Ser Trp Gly Pro Leu Phe Gly Lys Leu Phe Phe Ser Phe Trp Val Ile	
545 550 555 560	
GTC CAT CTC TAT CCA TTC CTC AAA GGT TTA ATG GGG AGA CAA AAC CGG	1728
Val His Leu Tyr Pro Phe Leu Lys Gly Leu Met Gly Arg Gln Asn Arg	
565 570 575	
ACA CCA ACC ATT GTT GTT ATA TGG TCA GTG CTA TTG GCT TCA ATC TTC	1776
Thr Pro Thr Ile Val Val Ile Trp Ser Val Leu Leu Ala Ser Ile Phe	
580 585 590	
TCC TTG CTT TGG GTC CGA ATT GAT CCA TTT GTG ATG AAA ACC AAA GGA	1824
Ser Leu Leu Trp Val Arg Ile Asp Pro Phe Val Met Lys Thr Lys Gly	
595 600 605	
CCA GAC ACT ACA ATG TGT GGC ATT AAC TGT TGAAAAAAA TCATCTTGCG	1874
Pro Asp Thr Thr Met Cys Gly Ile Asn Cys	
610 615	
TGGTTCTTT AGATTATGGT ATGTGATGTA TGAACAAACA AGAACATGGAGA TGCACAAAGAC	1934
AGAATAAAAT TAGAGTGAAA GTTTTGATTA GTTATATATT CATTCTACCA ACTATAAGTT	1994
TTGTCATTCA ATTGAAAATA GCTCAACTTT GTGATCAA	2033

【0079】配列番号：6

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：618

配列の種類：ペプチド

配列の型：アミノ酸

フラグメント型：C-terminal

配列

Pro Thr Phe Val Lys Glu Arg Arg Ala Met Lys Arg Glu Tyr Glu Glu	
1 5 10 15	
Phe Lys Val Arg Ile Asn Ala Leu Val Ala Lys Ala Glu Lys Val Pro	
20 25 30	
Pro Glu Gly Trp Ile Met Glu Asp Gly Thr Pro Trp Pro Gly Asn Asn	
35 40 45	
Thr Lys Asp His Pro Gly Met Ile Glu Val Phe Leu Glu Glu Ser Gly	
50 55 60	
Gly His Asp Thr Glu Gly Asn Glu Leu Pro Arg Leu Val Tyr Val Ser	
65 70 75 80	
Arg Glu Lys Arg Pro Gly Phe Leu His His Lys Lys Ala Glu Ala Met	
85 90 95	
Asn Ala Leu Val Arg Val Ser Gly Val Leu Thr Asn Ala Pro Phe Met	
100 105 110	
Leu Asn Leu Asp Cys Asp His Tyr Leu Asn Asn Ser Lys Ala Val Arg	
115 120 125	
Glu Ala Met Cys Phe Leu Met Asp Pro Glu Ile Gly Arg Lys Val Cys	
130 135 140	
Tyr Val Glu Phe Pro Glu Arg Phe Asp Gly Ile Asp Arg His Asp Arg	
145 150 155 160	
Tyr Ala Asn Arg Asn Thr Val Phe Phe Asp Ile Asn Met Lys Glu Leu	
165 170 175	
Asp Gly Ile Glu Gly Pro Val Tyr Val Glu Thr Gly Cys Val Phe Arg	
180 185 190	
Arg Glu Ala Leu Tyr Gly Tyr Glu Pro Pro Lys Gly Pro Lys Arg Pro	

49

50

195	200	205
Lys Met Val Thr Cys Gly Cys Cys Pro Cys Phe Gly Arg Arg Arg Lys		
210	215	220
Asp Lys Lys His Ser Lys Asp Gly Gly Asn Ala Asn Gly Leu Ser Leu		
225	230	235
Glu Ala Ala Lys Asp Asp Lys Glu Leu Leu Met Ser His Met Asn Phe		
245	250	255
Glu Lys Lys Phe Gly Gln Ser Ala Ile Phe Val Thr Ser Thr Leu Met		
260	265	270
Glu Gln Gly Gly Val Pro Pro Ser Ser Ser Pro Ala Ala Leu Leu Lys		
275	280	285
Glu Ala Ile His Val Ile Ser Cys Gly Tyr Glu Asp Lys Thr Glu Trp		
290	295	300
Gly Ser Glu Leu Gly Trp Ile Tyr Gly Ser Ile Thr Glu Asp Ile Leu		
305	310	315
Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly Trp Arg Ser Ile Tyr Cys Met		
325	330	335
Pro Lys Leu Pro Ala Phe Lys Gly Ser Ala Pro Ile Asn Leu Ser Asp		
340	345	350
Arg Leu Asn Gln Val Leu Arg Trp Ala Leu Gly Ser Val Glu Ile Phe		
355	360	365
Phe Ser His His Cys Pro Ala Trp Tyr Gly Phe Lys Gly Gly Lys Leu		
370	375	380
Lys Trp Leu Glu Arg Phe Ala Tyr Val Asn Thr Thr Ile Tyr Pro Phe		
385	390	395
Thr Ser Leu Pro Leu Leu Ala Tyr Cys Thr Leu Pro Ala Ile Cys Leu		
405	410	415
Leu Thr Asp Lys Phe Ile Met Pro Pro Ile Ser Thr Phe Ala Ser Leu		
420	425	430
Phe Phe Ile Ala Leu Phe Leu Ser Ile Phe Ala Thr Gly Ile Leu Glu		
435	440	445
Leu Arg Trp Ser Gly Val Ser Ile Glu Glu Trp Trp Arg Asn Gln Gln		
450	455	460
Phe Trp Val Ile Gly Gly Ile Ser Ala His Leu Phe Ala Val Ile Gln		
465	470	475
Gly Leu Leu Lys Val Leu Ala Gly Ile Asp Thr Asn Phe Thr Val Thr		
485	490	495
Ser Lys Ala Thr Asp Asp Glu Glu Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Phe Lys		
500	505	510
Trp Thr Thr Leu Leu Ile Pro Pro Thr Thr Val Leu Ile Ile Asn Leu		
515	520	525
Val Gly Val Val Ala Gly Ile Ser Asp Ala Ile Asn Asn Gly Tyr Gln		
530	535	540
Ser Trp Gly Pro Leu Phe Gly Lys Leu Phe Phe Ser Phe Trp Val Ile		
545	550	555
Val His Leu Tyr Pro Phe Leu Lys Gly Leu Met Gly Arg Gln Asn Arg		
565	570	575
Thr Pro Thr Ile Val Val Ile Trp Ser Val Leu Leu Ala Ser Ile Phe		
580	585	590
Ser Leu Leu Trp Val Arg Ile Asp Pro Phe Val Met Lys Thr Lys Gly		

51

595

600

605

Pro Asp Thr Thr Met Cys Gly Ile Asn Cys

610

615

【0080】配列番号：7

配列の長さ：1086

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

52

生物名：ワタ (*Gossypium hirsutum L.*)

株名：Coker312

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：24..1086

特徴を決定した方法：S

10

配列

GGCACGAGCT TTCAATACCT CCA ATG GAA GCC AGC GCC GGA CTC GTT GCG	50
Met Glu Ala Ser Ala Gly Leu Val Ala	
1 5	
GGC TCT CAC AAC CGC AAT GAA CTT GTT GTC ATT CAT GGC CAT GAA GAG	98
Gly Ser His Asn Arg Asn Glu Leu Val Val Ile His Gly His Glu Glu	
10 15 20 25	
CCT AAA CCT CTG AAG AAC TTG GAT GGT CAA GTT TGT GAG ATT TGT GGT	146
Pro Lys Pro Leu Lys Asn Leu Asp Gly Gln Val Cys Glu Ile Cys Gly	
30 35 40	
GAT GAA ATT GGG TTG ACG GTC GAT GGA GAT CTT TTC GTG GCC TGC AAC	194
Asp Glu Ile Gly Leu Thr Val Asp Gly Asp Leu Phe Val Ala Cys Asn	
45 50 55	
GAG TGT GGT TTT CCA GTT TGT AGG CCT TGT TAT GAG TAT GAA AGG AGA	242
Glu Cys Gly Phe Pro Val Cys Arg Pro Cys Tyr Glu Tyr Glu Arg Arg	
60 65 70	
GAA GGG AGT CAA CAA TGT CCT CAA TGC AAA ACT AGA TAC AAG CGT CTC	290
Glu Gly Ser Gln Gln Cys Pro Gln Cys Lys Thr Arg Tyr Lys Arg Leu	
75 80 85	
AAG GGG AGT CCG AGG GTG GAG GGA GAT GAA GAT GAA GAG GAT GTG GAT	338
Lys Gly Ser Pro Arg Val Glu Gly Asp Glu Asp Gln Glu Asp Val Asp	
90 95 100 105	
GAT ATC GAA CAT GAA TTC AAC ATT GAT GAT GAA CAA AAC AAG TAT AGA	386
Asp Ile Glu His Glu Phe Asn Ile Asp Asp Glu Gln Asn Lys Tyr Arg	
110 115 120	
AAT ATC GCT GAA TCG ATG CTT CAT GGA AAG ATG AGC TAC GGG AGA GGC	434
Asn Ile Ala Glu Ser Met Leu His Gly Lys Met Ser Tyr Gly Arg Gly	
125 130 135	
CCT GAA GAC GAT GAA GGT TTG CAA ATC CCA CCC GGT TTA GCT GGT GTT	482
Pro Glu Asp Asp Glu Gly Leu Gln Ile Pro Pro Gly Leu Ala Gly Val	
140 145 150	
CGA TCT CGG CCG GTG AGC GGG GAG TTC CCA ATA GGA AGC TCT CTT GCT	530
Arg Ser Arg Pro Val Ser Gly Glu Phe Pro Ile Gly Ser Ser Leu Ala	
155 160 165	
TAT GGG GAA CAC ATG TCA AAT AAA CGA GTT CAT CCA TAT CCT ATG TCT	578
Tyr Gly Glu His Met Ser Asn Lys Arg Val His Pro Tyr Pro Met Ser	
170 175 180 185	
GAA CCT GGA AGT GCA AGA TGG GAT GAA AAG AAA GAG GGA GGA TGG AGA	626
Glu Pro Gly Ser Ala Arg Trp Asp Glu Lys Lys Glu Gly Gly Trp Arg	
190 195 200	

53

54

GAA AGG ATG GAT GAT TGG AAA ATG CAG CAA GGG AAT TTG GGT CCT GAA	674		
Glu Arg Met Asp Asp Trp Lys Met Gln Gln Gly Asn Leu Gly Pro Glu			
205	210	215	
CCT GAT GAT GCC TAT GAT GCT GAC ATG GCT ATG CTT GAT GAA GCT AGG	722		
Pro Asp Asp Ala Tyr Asp Ala Asp Met Ala Met Leu Asp Glu Ala Arg			
220	225	230	
CAG CCA TTG TCA AGG AAA GTG CCA ATT GCA TCG AGC AAA ATC AAT CCT	770		
Gln Pro Leu Ser Arg Lys Val Pro Ile Ala Ser Ser Lys Ile Asn Pro			
235	240	245	
TAT CGT ATG GTG ATT GTG GCT CGT CTA GTT ATC CTT GCT TTC TTT CTT	818		
Tyr Arg Met Val Ile Val Ala Arg Leu Val Ile Leu Ala Phe Phe Leu			
250	255	260	265
CGC TAT CGG ATT TTG AAC CCG GTA CAT GAT GCA ATT GGG CTT TGG CTA	866		
Arg Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Val His Asp Ala Ile Gly Leu Trp Leu			
270	275	280	
ACT TCT GTG ATC TGT GAA ATC TGG TTT GCC TTT TCA TGG ATC CTT GAT	914		
Thr Ser Val Ile Cys Glu Ile Trp Phe Ala Phe Ser Trp Ile Leu Asp			
285	290	295	
CAG TTC CCT AAA TGG TTC CCT ATT GAC CGC GAG ACG TAT CTC GAT CGC	962		
Gln Phe Pro Lys Trp Phe Pro Ile Asp Arg Glu Thr Tyr Leu Asp Arg			
300	305	310	
CTT TCC CTC AGG TAT GAG AGG GAA GGT GAG CCC AAC ATG CTT GCT TCT	1010		
Leu Ser Leu Arg Tyr Glu Arg Glu Gly Glu Pro Asn Met Leu Ala Ser			
315	320	325	
GTT GAT ATT TTT GTC AGT ACA GTG GAT CCA TTG AAG GGA CCT CCT CTA	1058		
Val Asp Ile Phe Val Ser Thr Val Asp Pro Leu Lys Gly Pro Pro Leu			
330	335	340	345
GTA ACA GCG AAT ACA GTT CTA TCG ATC T	1086		
Val Thr Ala Asn Thr Val Leu Ser Ile			
350			

【0081】配列番号：8

トポロジー：直鎖状

配列の長さ：354

配列の種類：ペプチド

配列の型：アミノ酸

フラグメント型：N-terminal

配列

Met Glu Ala Ser Ala Gly Leu Val Ala Gly Ser His Asn Arg Asn Glu			
1	5	10	15
Leu Val Val Ile His Gly His Glu Glu Pro Lys Pro Leu Lys Asn Leu			
20	25	30	
Asp Gly Gln Val Cys Glu Ile Cys Gly Asp Glu Ile Gly Leu Thr Val			
35	40	45	
Asp Gly Asp Leu Phe Val Ala Cys Asn Glu Cys Gly Phe Pro Val Cys			
50	55	60	
Arg Pro Cys Tyr Glu Tyr Glu Arg Arg Glu Gly Ser Gln Gln Cys Pro			
65	70	75	80
Gln Cys Lys Thr Arg Tyr Lys Arg Leu Lys Gly Ser Pro Arg Val Glu			
85	90	95	
Gly Asp Glu Asp Glu Glu Asp Val Asp Asp Ile Glu His Glu Phe Asn			
100	105	110	
Ile Asp Asp Glu Gln Asn Lys Tyr Arg Asn Ile Ala Glu Ser Met Leu			
115	120	125	

55

56

【0082】配列番号：9

配列の長さ : 1000

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

起源

生物名：ワタ (*Gossypium hirsutum* L.)

株名 : Coker 312

配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置 : 1..1000

特徴を決定した方法 : S

配列

57

58

GGT CAA AGT GGA GGC CAT GAT ACC GAA GGA AAT GAG CTT CCT CGT CTC			240
Gly Gin Ser Gly Gly His Asp Thr Glu-Gly Asn Glu Leu Pro Arg Leu			
65 70 75 80			
GTC TAT GTA TCT CGA GAG AAA AGG CCA GGT TTC TTG CAT CAC AAG AAA			288
Val Tyr Val Ser Arg Glu Lys Arg Pro Gly Phe Leu His His Lys Lys			
85 90 95			
GCT GGT GCC ATG AAC GCC CTT GTT CGT GTC TCG GGG GTG CTT ACA AAT			336
Ala Gly Ala Met Asn Ala Leu Val Arg Val Ser Gly Val Leu Thr Asn			
100 105 110			
GCT CCT TTT ATG TTG AAC TTG GAT TGT GAC CAC TAT TTA AAT AAC AGC			384
Ala Pro Phe Met Leu Asn Leu Asp Cys Asp His Tyr Leu Asn Asn Ser			
115 120 125			
AAG GCT GTA AGA GAG GCT ATG TGT TTC TTG ATG GAC CCT CAA ATT GGA			432
Lys Ala Val Arg Glu Ala Met Cys Phe Leu Met Asp Pro Gin Ile Gly			
130 135 140			
AGA AAG GTT TGC TAT GTC CAA TTC CCT CAA CGT TTC GAT GGT ATT GAT			480
Arg Lys Val Cys Tyr Val Gin Phe Pro Gin Arg Phe Asp Gly Ile Asp			
145 150 155 160			
AGA CAT GAT CGA TAT GCC AAT CGG AAC ACA GTT TTC TTT GAT ATT AAC			528
Arg His Asp Arg Tyr Ala Asn Arg Asn Thr Val Phe Phe Asp Ile Asn			
165 170 175			
ATG AAA GGT CTA GAT GGT ATA CAA GGC CCT GTA TAT GTC GGC ACG GGG			576
Met Lys Gly Leu Asp Gly Ile Gin Gly Pro Val Tyr Val Gly Thr Gly			
180 185 190			
TGT GTT TTC AGA AGG CAA GCT CTT TAT GGT TAT GAA CCT CCA AAG GGA			624
Cys Val Phe Arg Arg Gin Ala Leu Tyr Gly Tyr Glu Pro Pro Lys Gly			
195 200 205			
CCT AAG CGC CCG AAA ATG GTA ACC TGT GGT TGC TGC CCT TGC TTT GGA			672
Pro Lys Arg Pro Lys Met Val Thr Cys Gly Cys Cys Pro Cys Phe Gly			
210 215 220			
CGC CGC AGA AAG GAC AAA AAG CAC TCT AAG GAT GGT GGA AAT GCA AAT			720
Arg Arg Arg Lys Asp Lys Lys His Ser Lys Asp Gly Gly Asn Ala Asn			
225 230 235 240			
GGT CTA AGC CTA GAA GCA GCC GAA GAT GAC AAG GAG TTA TTG ATG TCC			768
Gly Leu Ser Leu Glu Ala Ala Glu Asp Asp Lys Glu Leu Leu Met Ser			
245 250 255			
CAC ATG AAC TTT GAA AAG AAA TTT GGA CAA TCA GCC ATT TTT GTA ACT			816
His Met Asn Phe Glu Lys Lys Phe Gly Gin Ser Ala Ile Phe Val Thr			
260 265 270			
TCA ACA CTG ATG GAA CAA GGT GGT GTC CCT CCT TCT TCA AGC CCT GCA			864
Ser Thr Leu Met Glu Gin Gly Val Pro Pro Ser Ser Ser Pro Ala			
275 280 285			
GCT TTG CTC AAA GAA GCC ATT CAT GTA ATT AGT TGT GGT TAT GAA GAC			912
Ala Leu Leu Lys Glu Ala Ile His Val Ile Ser Cys Gly Tyr Glu Asp			
290 295 300			
AAA ACC GAA TGG GGA AGC GAG CTT GGC TGG ATT TAC GGC TCG ATT ACA			960
Lys Thr Glu Trp Gly Ser Glu Leu Gly Trp Ile Tyr Gly Ser Ile Thr			
305 310 315 320			
GAA GAT ATC TTA ACA GGT TTC AAG ATG CAT TGC CGT GGA T			1000
Glu Asp Ile Leu Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly			

59

325

【0083】配列番号：10

配列の長さ：333

配列の型：アミノ酸

60

330

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

フラグメント型：internal

Asp	Lys	Val	Arg	Pro	Thr	Phe	Val	Lys	Glu	Arg	Arg	Ala	Met	Lys	Arg
1		5					10					15			
Glu	Tyr	Glu	Glu	Phe	Lys	Val	Arg	Ile	Asn	Ala	Leu	Val	Ala	Lys	Ala
	20					25					30				
Gln	Lys	Val	Pro	Pro	Glu	Gly	Trp	Ile	Met	Gln	Asp	Gly	Thr	Pro	Trp
	35				40				45						
Pro	Gly	Asn	Asn	Thr	Lys	Asp	His	Pro	Gly	Met	Ile	Gln	Val	Phe	Leu
	50				55			60							
Gly	Gln	Ser	Gly	Gly	His	Asp	Thr	Glu	Gly	Asn	Gln	Leu	Pro	Arg	Leu
	65				70			75			80				
Val	Tyr	Val	Ser	Arg	Glu	Lys	Arg	Pro	Gly	Phe	Leu	His	His	Lys	Lys
	85				90			95							
Ala	Gly	Ala	Met	Asn	Ala	Leu	Val	Arg	Val	Ser	Gly	Val	Leu	Thr	Asn
	100				105			110							
Ala	Pro	Phe	Met	Leu	Asn	Leu	Asp	Cys	Asp	His	Tyr	Leu	Asn	Asn	Ser
	115				120			125							
Lys	Ala	Val	Arg	Glu	Ala	Met	Cys	Phe	Leu	Met	Asp	Pro	Gln	Ile	Gly
	130				135			140							
Arg	Lys	Val	Cys	Tyr	Val	Gln	Phe	Pro	Gln	Arg	Phe	Asp	Gly	Ile	Asp
	145				150			155			160				
Arg	His	Asp	Arg	Tyr	Ala	Asn	Arg	Asn	Thr	Val	Phe	Phe	Asp	Ile	Asn
	165				170			175							
Met	Lys	Gly	Leu	Asp	Gly	Ile	Gln	Gly	Pro	Val	Tyr	Val	Gly	Thr	Gly
	180				185			190							
Cys	Val	Phe	Arg	Arg	Gln	Ala	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Glu	Pro	Pro	Lys	Gly
	195				200			205							
Pro	Lys	Arg	Pro	Lys	Met	Val	Thr	Cys	Gly	Cys	Cys	Pro	Cys	Phe	Gly
	210				215			220							
Arg	Arg	Arg	Lys	Asp	Lys	His	Ser	Lys	Asp	Gly	Gly	Asn	Ala	Asn	
	225				230			235			240				
Gly	Leu	Ser	Leu	Glu	Ala	Ala	Glu	Asp	Asp	Lys	Glu	Leu	Leu	Met	Ser
	245				250			255							
His	Met	Asn	Phe	Glu	Lys	Lys	Phe	Gly	Gln	Ser	Ala	Ile	Phe	Val	Thr
	260				265			270							
Ser	Thr	Leu	Met	Glu	Gln	Gly	Gly	Val	Pro	Pro	Ser	Ser	Ser	Pro	Ala
	275				280			285							
Ala	Leu	Leu	Lys	Glu	Ala	Ile	His	Val	Ile	Ser	Cys	Gly	Tyr	Glu	Asp
	290				295			300							
Lys	Thr	Glu	Trp	Gly	Ser	Glu	Leu	Gly	Trp	Ile	Tyr	Gly	Ser	Ile	Thr
	305				310			315			320				
Glu	Asp	Ile	Leu	Thr	Gly	Phe	Lys	Met	His	Cys	Arg	Gly			
	325				330										

【0084】配列番号：11

配列の長さ：333

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

フラグメント型：C-terminal

配列の特徴

50 特徴を表す記号：

存在位置：

特徴を決定した方法：S

配列

Asp Lys Val Arg Pro Thr Phe Val Lys Glu Arg Arg Ala Met Lys Arg
 1 5 10 15
 Glu Tyr Glu Glu Phe Lys Val Arg Ile Asn Ala Leu Val Ala Lys Ala
 20 25 30
 Gln Lys Val Pro Pro Glu Gly Trp Ile Met Gln Asp Gly Thr Pro Trp
 35 40 45
 Pro Gly Asn Asn Thr Lys Asp His Pro Gly Met Ile Gln Val Phe Leu
 50 55 60
 Gly Gln Ser Gly Gly His Asp Thr Glu Gly Asn Glu Leu Pro Arg Leu
 65 70 75 80
 Val Tyr Val Ser Arg Glu Lys Arg Pro Gly Phe Leu His His Lys Lys
 85 90 95
 Ala Gly Ala Met Asn Ala Leu Val Arg Val Ser Gly Val Leu Thr Asn
 100 105 110
 Ala Pro Phe Met Leu Asn Leu Asp Cys Asp His Tyr Leu Asn Asn Ser
 115 120 125
 Lys Ala Val Arg Glu Ala Met Cys Phe Leu Met Asp Pro Gln Ile Gly
 130 135 140
 Arg Lys Val Cys Tyr Val Gln Phe Pro Gln Arg Phe Asp Gly Ile Asp
 145 150 155 160
 Arg His Asp Arg Tyr Ala Asn Arg Asn Thr Val Phe Phe Asp Ile Asn
 165 170 175
 Met Lys Gly Leu Asp Gly Ile Gln Gly Pro Val Tyr Val Gly Thr Gly
 180 185 190
 Cys Val Phe Arg Arg Gln Ala Leu Tyr Gly Tyr Glu Pro Pro Lys Gly
 195 200 205
 Pro Lys Arg Pro Lys Met Val Thr Cys Gly Cys Cys Pro Cys Phe Gly
 210 215 220
 Arg Arg Arg Lys Asp Lys Lys His Ser Lys Asp Gly Gly Asn Ala Asn
 225 230 235 240
 Gly Leu Ser Leu Glu Ala Ala Xaa Asp Asp Lys Glu Leu Leu Met Ser
 245 250 255
 His Met Asn Phe Glu Lys Phe Gly Gln Ser Ala Ile Phe Val Thr
 260 265 270
 Ser Thr Leu Met Glu Gln Gly Gly Val Pro Pro Ser Ser Pro Ala
 275 280 285
 Ala Leu Leu Lys Glu Ala Ile His Val Ile Ser Cys Gly Tyr Glu Asp
 290 295 300
 Lys Thr Glu Trp Gly Ser Glu Leu Gly Trp Ile Tyr Gly Ser Ile Thr
 305 310 315 320
 Glu Asp Ile Leu Thr Gly Phe Lys Met His Cys Arg Gly Trp Arg Ser
 325 330 335
 Ile Tyr Cys Met Pro Lys Leu Pro Ala Phe Lys Gly Ser Ala Pro Ile
 340 345 350
 Asn Leu Ser Asp Arg Leu Asn Gln Val Leu Arg Trp Ala Leu Gly Ser
 355 360 365
 Val Glu Ile Phe Phe Ser His His Cys Pro Ala Trp Tyr Gly Phe Lys

他の情報：XaaはGlu又はLysを表す

63

64

370	375	380
Gly Gly Lys Leu Lys Trp Leu Glu Arg-Phe Ala Tyr Val Asn Thr Thr		
385	390	395
Ile Tyr Pro Phe Thr Ser Leu Pro Leu Leu Ala Tyr Cys Thr Leu Pro		400
405	410	415
Ala Ile Cys Leu Leu Thr Asp Lys Phe Ile Met Pro Pro Ile Ser Thr		
420	425	430
Phe Ala Ser Leu Phe Phe Ile Ala Leu Phe Leu Ser Ile Phe Ala Thr		
435	440	445
Gly Ile Leu Glu Leu Arg Trp Ser Gly Val Ser Ile Glu Glu Trp Trp		
450	455	460
Arg Asn Glu Gln Phe Trp Val Ile Gly Gly Ile Ser Ala His Leu Phe		
465	470	475
Ala Val Ile Gln Gly Leu Leu Lys Val Leu Ala Gly Ile Asp Thr Asn		480
485	490	495
Phe Thr Val Thr Ser Lys Ala Thr Asp Asp Glu Glu Phe Gly Glu Leu		
500	505	510
Tyr Thr Phe Lys Trp Thr Thr Leu Leu Ile Pro Pro Thr Thr Val Leu		
515	520	525
Ile Ile Asn Leu Val Gly Val Val Ala Gly Ile Ser Asp Ala Ile Asn		
530	535	540
Asn Gly Tyr Gln Ser Trp Gly Pro Leu Phe Gly Lys Leu Phe Phe Ser		
545	550	555
Phe Trp Val Ile Val His Leu Tyr Pro Phe Leu Lys Gly Leu Met Gly		560
565	570	575
Arg Gln Asn Arg Thr Pro Thr Ile Val Val Ile Trp Ser Val Leu Leu		
580	585	590
Ala Ser Ile Phe Ser Leu Leu Trp Val Arg Ile Asp Pro Phe Val Met		
595	600	605
Lys Thr Lys Gly Pro Asp Thr Thr Met Cys Gly Ile Asn Cys		
610	615	620

【0085】配列番号：12

1 5

配列の長さ：9

【0086】配列番号：13

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：54

トポロジー：直鎖状

配列の型：核酸

配列の種類：ペプチド

鎖の数：一本鎖

フラグメント型：internal

トポロジー：直鎖状

配列

配列の種類：他の核酸..合成DNA

Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Trp

配列

GAGAGAGAGA GAGAGAGAGA ACTAGTCTCG AGTTTTTTTT TTTTTTTTT 54

【0087】配列番号：14

配列の特徴

配列の長さ：13

特徴を表す記号：

配列の型：核酸

存在位置：1..4

鎖の数：二本鎖

特徴を決定した方法：S

トポロジー：直鎖状

他の情報：一本鎖

配列の種類：他の核酸..合成DNA

配列

AATTGGCAC GAG

【0088】配列番号：15

50 配列の長さ：20

65

66

配列の型：核酸
鎖の数：一本鎖

配列

GACTGAAGAT AAGCCAAAAG

【0089】配列番号：16

配列の長さ：19

配列の型：核酸

配列

GGAATGATGA ATTTGCCGG

【0090】配列番号：17

配列の長さ：20

配列の型：核酸

配列

TGCAGGCCAAC TTTGGCATGC

【0091】配列番号：18

配列の長さ：30

配列の型：核酸

配列

AGCAACACCGA GCAAGATGAG GAGGATGACT

【0092】配列番号：19

配列の長さ：28

配列の型：核酸

配列

CCGGATCCTT CAACCCCTCT TCGATTTC

【0093】配列番号：20

配列の長さ：29

配列の型：核酸

配列

CCGGATCCAC GGCAATGCAT CTTGAAACC

【0094】配列番号：21

配列の長さ：17

配列の型：核酸

配列

GGTTAGCATA TTGTTGTAG CATTGGG

【0095】配列番号：22

配列の長さ：17

配列の型：核酸

配列

ATCAATGAAA TATGTATAGT TCATAGC

【0096】配列番号：23

配列の長さ：17

配列の型：核酸

配列

CTTTCGTTCT TTTGGTTTIG CCATGGC

【0097】配列番号：24

配列の長さ：17

配列の型：核酸

配列

AGACTTTTTA CAAACAAGAT AAATCCC

【図面の簡単な説明】

20

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

19

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

20

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

30

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

28

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

29

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

17

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

17

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

17

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸..合成DNA

17

2つのクローンの関係を示す図。矢印で挟まれた領域は塩基配列を決定した領域を、点線は塩基配列未決定の領域を表す。

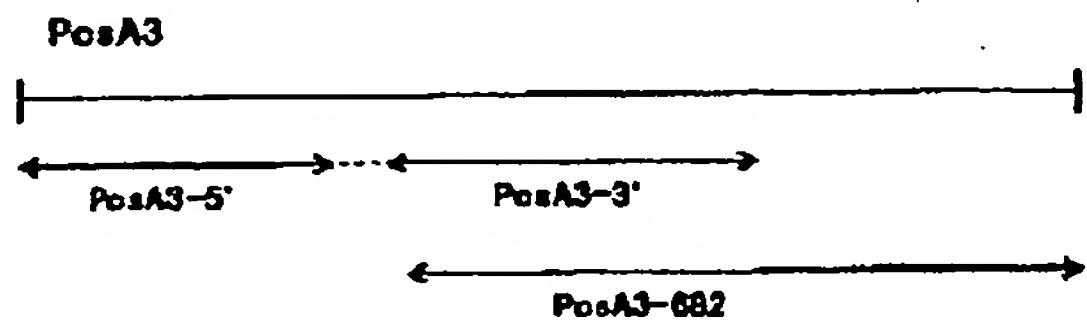
【図2】 EcoRIアダプターの構造を示す図。

【図3】 PcsA3-682とPcsA3-3'の配

列を比較した図（前半）。

【図4】 PcsA3-682とPcsA3-3'の配列を比較した図（後半）。「:」は一致する塩基を、「*」は一致しない塩基を表す。

【図1】



【図2】



【図4】

	550	560	570	580	590	600
PcsA3-682	GGCCCTGTATATGTCGGCACGGGGTGTGTTTCAGAAGGCAAGCTCTTATGGTTATGAA	: :				
PcsA3-3'	GGCCCTGTATATGTCGGCACGGGGTGTGTTTCAGAAGGCAAGCTCTTATGGTTATGAA					
	560	570	580	590	600	610
	610	620	630	640	650	660
PcsA3-682	CCTCCAAAQQQACCTAAGCGCCCGAAAATGGTAACCTGTGGTTGCTGCCCTTGTGTTGGAA	: :				
PcsA3-3'	CCTCCAAAQQQACCTAAGCGCCCGAAAATGGTAACCTGTGGTTGCTGCCCTTGTGTTGGAA					
	620	630	640	650	660	670
	670	680	690	700	710	720
PcsA3-682	CGCCGCAGAAAGGACAAAAAGCACTCTAAGGATGGTGGAAATGCAAATGGTCTAACGCTA	: :				
PcsA3-3'	CGCGCAAAAGGACAAAAAGCACTCTAAGGATGGTGGAAATGCAAATGGTCTAACGCTA					
	680	690	700	710	720	730
	730	740	750	760	770	780
PcsA3-682	GAAGCAGCCAAAGATGACAAGGAGTTATTGATGTCCCACATGAACTTGTAAAAGAAATT	: : : : : * :				
PcsA3-3'	GAAGCAGCCAAAGATGACAAGGAGTTATTGATGTCCCACATGAACTTGTAAAAGAAATT					
	740	750	760	770	780	790
	790	800	810	820	830	840
PcsA3-682	GGACAATCAGCCATTTTGTAACCTCAACACTGATGGAACAGBTGGTGTCCCTCCTTGT	: :				
PcsA3-3'	GGACAATCAGCCATTTTGTAACCTCAACACTGATGGAACAGBTGGTGTCCCTCCTTGT					
	800	810	820	830	840	850
	850	860	870	880	890	900
PcsA3-682	TCAAGCCCCCAGCTTGCTCAAAGAACGATTGATAATTAGTTGTGGTTATGAAACAC	: : : : : * :				
PcsA3-3'	TCAAGCCCTGCAGCTTGCTCAAAGAACGATTGATAATTAGTTGTGGTTATGAAACAC					
	860	870	880	890	900	910
	910	920	930	940	950	960
PcsA3-682	AAAAGAGAATGGGAAGCGAGCTGGCTGGATTTACGGCTGATTACAGAAGATATCTTA	: : : : * :				
PcsA3-3'	AAAACCGAATGGGAAGCGAGCTGGCTGGATTTACGGCTGATTACAGAAGATATCTTA					
	920	930	940	950	960	970
	970	980				
PcsA3-682	ACAGGATTCAAGATGCATTGGCGTGGAT	: : : : * :				
PcsA3-3'	ACAGGTTCAAGATGCATTGGCGTGGAT					
	980	990	1000			

【図 3】

PcsA3-682	10	20	30	40	50	60
	CCGACATTCTGTAAGGAGCGTCGAGCTATGAAGAGAGAATATGAAGAATTCAAGGTTAQQ	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	20	30	40	50	60	70
	CCGACATTCTGTAAGGAGCGTCGAGCTATGAAGAGAGAATATGAAGAATTCAAGGTTAQQ	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	70	80	90	100	110	120
	ATAAATGCACTTGTAGCCAAAGGCCAAAAGGTTCTCCAGAAGGGTGGATCATGCAAGAT	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	80	90	100	110	120	130
	ATAAATGCACTTGTAGCCAAAGGCCAAAAGGTTCTCCAGAAGGGTGGATCATGCAAGAT	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	130	140	150	160	170	180
	GGGACACCATGCCAGBAAACAATACTAAAGATCACCGCTGGTATGATTCAAGTATTCCTC	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	140	150	160	170	180	190
	GGGACACCATGCCAGBAAACAATACTAAAGATCACCGCTGGTATGATTCAAGTATTCCTC	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	190	200	210	220	230	240
	GGTCAAAGTGGAGGCCATGATACCGAAGGAATGAGCTTCCCTCGTCTCGTCTATGTATCT	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	200	210	220	230	240	250
	GGTCAAAGTGGAGGCCATGATACCGAAGGAATGAGCTTCCCTCGTCTCGTCTATGTATCT	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	250	260	270	280	290	300
	CGAGAGAAAAGGCCCTGGTTCTTGATCACAGAAAAGCTGGTGGCATGAAACGCCCTGTT	::::::::::: * ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	260	270	280	290	300	310
	CGAGAGAAAAGGCCAGGTTCTTGATCACAGAAAAGCTGGTGGCATGAAACGCCCTGTT	::::::::::: * ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	310	320	330	340	350	360
	CGGGTCTCGGGGGTGGCTCACAAATGCTCTTTATGTTGAACTTGGATTGTGACCATTAT	::::*: ::::::::::*: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	320	330	340	350	360	370
	CGTGTCTCGGGGGTGGCTAACAAATGCTCTTTATGTTGAACTTGGATTGTGACCATTAT	::::*: ::::::::::*: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	370	380	390	400	410	420
	TTAAATAACAGCAAGGCTGTAAGAGAGGCTATGTGTTCTGATGGACCTCAAATTGGA	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	380	390	400	410	420	430
	TTAAATAACAGCAAGGCTGTAAGAGAGGCTATGTGTTCTGATGGACCTCAAATTGGA	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	430	440	450	460	470	480
	AGAAAGGTTGCTATGTCCAATTCCCTCAACCTTCTGATGGTATTGATAGACATGATCGA	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	440	450	460	470	480	490
	AGAAAGGTTGCTATGTCCAATTCCCTCAACCTTCTGATGGTATTGATAGACATGATCGA	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-682	490	500	510	520	530	540
	TATGCCAACCGAACACAGTTCTTGATATTAAACATGAAAGGTCTAGATGGTATAACAA	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				
PcsA3-3'	500	510	520	530	540	550
	TATGCCAACCGAACACAGTTCTTGATATTAAACATGAAAGGTCTAGATGGTATAACAA	::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::::::::::::::::				

フロントページの続き

(51) Int.CI. *

識別記号

F I

技術表示箇所

9/10

C12N 5/00

B

//(C12N 15/09

ZNA

C12R 1:91)

(72)発明者 青塚 聰

東京都足立区西新井栄町 1-18-1 日

清紡績株式会社東京研究センター内

(72)発明者 林 隆久

京都府宇治市五ヶ庄官有地京都大学宿舎 5

44号

(72)発明者 井原 由理

大阪府高石市東羽衣 1 丁目 5-33

THIS PAGE BLANK (USPTO)